

Vacina Viva Atenuada Contra Tristeza Parasitária Bovina



ISSN 1982-5390

Dezembro, 2017

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Pecuária Sul
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos157

Vacina Viva Atenuada Contra Tristeza Parasitária Bovina

*Emanuelle Baldo Gaspar
Ana Maria Sastre Sacco
Magda Vieira Benavides*

Embrapa Pecuária
Sul Bagé, RS
2017

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Pecuária Sul

BR 153, Km 632,9. Caixa postal 242

96401-970 - Bagé – RS

Fax: 55 53 3240-4650

www.embrapa.br/pecuaria-sul

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Fernando Flores Cardoso*

Secretária-Executiva: *Márcia Cristina Teixeira da Silveira*

Membros: *Bruna Pena Sollero, Elisa Köhler Osmari, Estefanía Damboriarena, Fabiane Pinto Lamego, Graciela Olivella Oliveira, Jorge Luiz Sant'Anna dos Santos, Robert Domingues, Sérgio de Oliveira Jüchem.*

Suplentes: *Henry Gomes de Carvalho, Marcos Jun Iti Yokoo*

Supervisor editorial: *Lisiane Brisolara*

Revisor de texto: *Felipe Rosa*

Normalização bibliográfica: *Manuela Bergamim*

Tratamento e Editoração eletrônica: *Émerson Almeida*

Foto(s) da capa: *Manuela Bergamim*

1ª edição

Publicação digitalizada (2017)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei N° 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Pecuária Sul

Gaspar, Emanuelle Baldo

Vacina viva atenuada contra tristeza parasitária bovina / Emanuelle Baldo Gaspar, Ana Maria Sastre Sacco, Magda Vieira Benavides. – Bagé : Embrapa Pecuária Sul, 2017.

PDF (24 p.) : 21 cm x 15 cm. – (Documentos / Embrapa Pecuária Sul, ISSN 1982-5390 ; 157)

1. Tristeza parasitária. 2. Vacina. 3. Bovino. 4. Carrapato. I. Sacco, Ana Maria Sastre. II. Benavides, Magda Vieira. III. Título. IV. Série.

CDD 636.0896936

© Embrapa 2017

Autores

Emanuelle Baldo Gaspar

Médica Veterinária, Dra., Pesquisadora na Embrapa
Pecuária Sul, Bagé, RS

Ana Maria Sastre Sacco

Médica Veterinária, Dra., Pesquisadora Aposentada da
Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS

Magda Vieira Benavides

Zootecnista, PhD, Pesquisadora na Embrapa Pecuária
Sul, Bagé, RS

Apresentação

As publicações técnicas da Série Embrapa são importantes veículos de informação, destinada a produtores, técnicos, empresários do agronegócio, pesquisadores, estudantes e público em geral interessados nas tecnologias desenvolvidas pela Empresa e seus colaboradores. Trata-se de publicações com distintas características, objetivos e público alvo, tais como: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento; Documentos; Circular Técnica; Comunicado Técnico; Sistemas de Produção; Livro e outros.

A Embrapa Pecuária Sul utiliza este veículo para comunicar suas tecnologias produzidas, recomendações, práticas agrícolas e resultados de pesquisa e desenvolvimento, direcionando ao público interessado informações ligadas à produção de forrageiras e pastagens, bovinocultura de corte e leite e ovinocultura dos campos sulbrasilieiros. É com satisfação que oferecemos mais esta obra, destacando recente trabalho desenvolvido pelo Centro da Embrapa, em Bagé, em benefício à sustentabilidade da pecuária sulina.

Esta publicação da Série Embrapa trata de um método de prevenção e controle de uma das principais causas da mortalidade em bovinos nos campos sulbrasilieiros, a Tristeza Parasitária Bovina (TPB). A vacina viva atenuada contra a TPB visa produzir uma resposta imunológica para prevenir ou minimizar doenças, estimula a imunidade no bovino. Este documento procura orientar produtores e técnicos sobre o melhor uso desta vacina e, com isso, contribuir para a menos incidência da TPB nas propriedades rurais.

Esperamos que os leitores desfrutem deste Documento e sugerimos que, em caso de maior interesse no tema abordado ou necessidades de esclarecimentos, realizem o contato com nosso setor de atendimento ao cliente (SAC), acessando <https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/> ou pelo fone (53) 3240-4650. A Embrapa terá o máximo prazer em atendê-lo.

Alexandre Varella

Chefe Geral da Embrapa Pecuária Sul

Sumário

Introdução	07
Como é a vacina contra TPB existente?	
Quais suas vantagens e desvantagens?	08
Quem deve ser vacinado?	10
Qual a persistência da imunidade das vacinas da TPB?	11
Quais são as fragilidades da vacina atenuada contra a TPB? ..	11
A aplicação destas vacinas requer uma série de cuidados vacinais e pós-vacinais, listados abaixo:	14
Mas, se sabemos que a melhor opção para a prevenção de doenças é a vacinação, porque não temos vacinas mais modernas contra a TPB?	15
Perspectivas a serem consideradas	19
Referências	20

Vacina Viva Atenuada Contra Tristeza Parasitária Bovina

Emanuelle Baldo Gaspar

Ana Maria Sastre Sacco

Magda Vieira Benavides

Introdução

Tristeza parasitária bovina (TPB) é um complexo de doenças causadas pelos protozoários *Babesia bovis* e *B. bigemina* e pela riquetsia *Anaplasma marginale*. É transmitida biologicamente pelo carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, sendo que *A. marginale* também pode ser transmitido mecanicamente por insetos hematófagos ou por agulhas ou outros perfuro-cortantes contaminados. O controle da TPB é baseado em: (1) medidas de manejo que favoreçam a imunização natural dos terneiros, pela exposição ao carrapato, já que esta categoria animal é mais resistente à TPB; (2) quimioprofilaxia; (3) controle do carrapato; (4) pré-imunização; e, finalmente, (5) vacinação.

Visto que os quatro primeiros tópicos foram mais extensivamente abordados em outras publicações (SACCO, 2001, 2002), este documento tem por objetivo desenvolver apenas o tema da vacinação contra TPB.

Vacinas são preparações biológicas que têm como finalidade promover a resposta imunológica para prevenir ou minimizar doenças (VACCINE..., 2017; VACINA..., 2004) e, ao menos em teoria, estimulam a imunidade, simulando a infecção, porém sem causar a doença clínica. É como se, ao ser exposto a um desafio natural, o animal vacinado já tivesse “visto” aquele microrganismo e seu corpo então “relembra” e reconhece aquele agente como estranho, sem que este chegue a causar a doença (GASPAR; SANTOS, 2014). Isso é possível porque o sistema imunológico dos animais é dotado de um mecanismo conhecido como “memória imunológica”, que faz com que, a partir da segunda exposição a um “agente estranho”, a resposta imunológica seja mais rápida e de maior magnitude em comparação à primeira exposição (TIZARD, 2013).

Como é a vacina contra TPB existente? Quais suas vantagens e desvantagens?

As vacinas contra as babesioses são produzidas com cepas¹, tanto de *B. bovis* quanto de *B. bigemina*, atenuadas por sucessivas passagens em bovinos esplenectomizados². Estas passagens em animais esplenectomizados fazem com que as cepas gradativamente percam ou minimizem sua virulência³. A vacina contra a anaplasiose, também multiplicada em animais, que não são esplenectomizados, é constituída por *Anaplasma centrale*, uma espécie correlata, que oferece proteção cruzada contra *A. marginale*, não necessitando de sucessivas passagens para atenuação, pois esta espécie é naturalmente menos patogênica que *A. marginale* (DALGIESH et al., 1990).

¹ Cepas: subtipo de um determinado microrganismo, ou seja, uma subpopulação de uma espécie. Normalmente, regiões geográficas distintas possuem cepas distintas de microrganismos.

² Esplenectomizados: cujo baço foi removido cirurgicamente. Para a produção de vacinas contra TPB este procedimento é necessário, pois permite a maior multiplicação dos agentes infecciosos.

³ Virulência: poder que um dado microrganismo tem de causar doença.

A vacina de *A. centrale* vem sendo usada há mais de 100 anos (BELL-SAKYI et al., 2015). Já as vacinas inativadas contra *B. bovis* e *B. bigemina* vêm sendo usadas desde a década de 1960 na Austrália (BOCK; DE VOS, 2001). Embora a eficiência destas vacinas tenha sido demonstrada mais pela experiência prática a campo de que em estudos controlados, Bock e De Vos, (2001) afirmam que, naquele país, o uso de uma dose única da vacina contra as babesias normalmente promove imunidade adequada e duradoura, desde que haja reinoculação leve a campo. Falhas vacinais contra *B. bovis* ocorrem, mas, normalmente, são pontuais, uma vez que por diferenças genéticas entre indivíduos ou por problemas com o lote de vacinas, a resposta imunológica não é igual para todos os indivíduos. Já a proteção contra anaplasnose promovida pela vacina de *A. centrale* é variável e, muitas vezes parcial, dependendo da área geográfica onde a vacina for usada (BOCK; DE VOS, 2001).

Também no Brasil foram realizados esforços no desenvolvimento de vacina contra TPB, com cepas atenuadas das babesias, usando isolados brasileiros, por meio de metodologia baseada nos estudos australianos, inclusive com participação ativa de pesquisadores da Embrapa Gado de Corte e Embrapa Pecuária Sul (ARTECHE, 1992; KESSLER et al., 1991; SACCO et al., 2001). Contra anaplasnose, esta vacina era composta por *A. centrale*. A metodologia para a produção da vacina atenuada é de domínio público e, desde que foi desenvolvida, a transferência de tecnologia de produção foi oferecida ao mercado, porém, nunca atraiu investimentos dos grandes laboratórios, pelo fato de sua produção ser praticamente artesanal e pelos riscos oferecidos, discutidos adiante neste mesmo documento. Em países vizinhos, como o Uruguai e a Argentina é produzida por laboratórios públicos ou pequenos laboratórios. No Brasil, apenas a versão refrigerada vem sendo produzida e comercializada, mas em baixa escala.

Ainda que estas tenham sido desenvolvidas há bastante tempo, continuam sendo as únicas opções de vacinas contra TPB, a despeito dos inúmeros esforços da comunidade científica na tentativa do desenvolvimento de vacinas mais modernas, compostas por subunidades dos microrganismos⁴, proteínas

⁴ Microrganismos: seres de tamanho reduzido e que não podem ser visualizados a olho nu. Podem ser vírus, bactérias, protozoários, etc. Muitos deles são patogênicos, ou seja, podem causar doenças. Subunidades de microrganismos – pequenas “porções” dos mesmos, como, por exemplo, membranas, flagelos, pili. Estas vacinas de subunidade, apesar de não conterem os microrganismos inteiros, em alguns casos, podem induzir imunidade

recombinantes⁵ ou DNA⁶. De fato, várias destas vacinas já foram testadas, mas sem o sucesso necessário para a liberação comercial (SANTOS et al., 2013).

Quem deve ser vacinado?

A vacinação é indicada para terneiros, uma vez que bovinos de até nove meses de idade são mais resistentes à TPB. Alguns animais, mesmo vacinados, podem adoecer, pois a imunização não os torna completamente resistentes devido a variações genéticas entre indivíduos. Entretanto, a vacina previne o aparecimento de formas clínicas⁷ graves da doença. Ademais, por conter parasitas vivos, ainda que atenuados, as próprias vacinas podem causar sintomatologia de TPB e não são recomendadas para animais adultos, especialmente fêmeas prenhes, pois a febre causada pela vacina pode ocasionar abortos (DE WAAL; COMBRINK, 2006). É possível vacinar animais mais velhos, desde que haja acompanhamento no período pós-vacinal, quando reações adversas podem ocorrer (até 21 dias após vacinação), para que o tratamento específico com imidocarb, diaceturato de dibenzamidina ou tetraciclina, além de tratamento de suporte, tal como fluidoterapia e protetor hepático, possa ser feito caso os animais adoçam. De qualquer forma, o acompanhamento veterinário pós-vacinal é imprescindível para evitar perdas. Deve-se ter em mente que as raças europeias são geneticamente mais sensíveis à TPB, pois, pelo fato de esta doença não ser originária da Europa, o gado europeu tem menos tempo de adaptação à TPB em comparação ao gado zebuino (BOCK; DE VOS, 1997; DE WAAL; COMBRINK, 2006).

capaz de proteger o animal de um desafio com o agente causal da doença.

⁵ Proteínas recombinantes: proteínas produzidas em organismos geneticamente modificados, nos quais são inseridos, por engenharia genética, genes para a sua produção. Estas proteínas podem ter inúmeras utilidades, sendo uma das mais importantes, o seu uso como vacinas.

⁶ DNA – ácido desoxirribonucleico. É a molécula que representa o código genético de todos os seres vivos.

⁷ Forma clínica de uma infecção é a que apresenta sintomas detectáveis. No caso da TPB os principais sintomas são febre, anemia e apatia intensa.

Qual a persistência da imunidade das vacinas da TPB?

A imunidade à vacina viva atenuada se desenvolve 3 a 4 semanas após a vacinação. Na ausência do desafio natural, constituído pelos agentes inoculados pelos carrapatos nas condições de campo, a imunidade promovida pela vacina contra *B. bovis* persiste por cerca de três anos (DE WAAL; COMBRINK, 2006) a quatro anos (DE VOS; BOCK, 2000), enquanto que a imunidade contra *B. bigemina* dura cerca de 16 meses (DE WAAL; COMBRINK, 2006). Animais vacinados com *A. centrale* podem ser portadores deste microrganismo por até 5,5 anos (KRIGEL et al., 1992), e, portanto, resistentes ao desafio. Por isso mesmo, em áreas endêmicas o controle intensivo, na tentativa de erradicação do carrapato, não é indicado após a vacinação (DE WAAL; COMBRINK, 2006), pois a manutenção da imunidade depende de exposições sucessivas ao carrapato e, conseqüentemente, inoculação continuada dos agentes causadores de TPB.

Quais são as fragilidades da vacina atenuada contra a TPB?

Mesmo sendo bastante eficazes, as vacinas vivas atenuadas apresentam alguns pontos negativos, destacados abaixo:

- Não são universalmente eficazes. Na dependência da cepa que ocorre na região, principalmente a vacina contra a anaplasmose pode ter eficácia reduzida (BOCK; DE VOS, 2001), pois, por ser composta por *A. centrale*, não protege contra todas as cepas de *A. marginale*.
- São vacinas que previnem a ocorrência da doença clínica, ou seja, do aparecimento dos sintomas, mas não da infecção. Isto é, os animais vacinados tornam-se infectados, mas não adoecem,

pois, devido à memória imunológica conseguem controlar a multiplicação dos agentes infecciosos. Acontece que animais infectados são reservatórios para a persistência do agente etiológico na população (KOCAN et al., 2003), permitindo a disseminação dos microrganismos para outros bovinos não infectados. Desta forma, mesmo que usadas massivamente, estas vacinas não possibilitariam programas de erradicação da doença, já que para o sucesso de programas de erradicação por meio de vacinação, a vacina deve prevenir não só a doença, mas também a infecção.

- Como estas vacinas são sangue bovino contendo células parasitadas por *B. bovis*, *B. bigemina* ou *A. centrale*, existe o risco de transmissão de agentes causadores de outras doenças infectocontagiosas, mesmo que os animais tenham sido testados, pois os métodos de diagnóstico normalmente não têm 100% de sensibilidade. Isso também encarece o custo da vacina, pois, dependendo do país, podem ser necessários testes para até 21 doenças como, por exemplo, BVD, IBR, febre aftosa, brucelose, etc. (BOCK et al., 2004).
- Além destes fatores, o custo de produção da vacina também é elevado, pois, além da estrutura laboratorial, há a necessidade da manutenção dos animais em condições de isolamento, necessitando de infraestrutura que permita que os animais fiquem livres de carrapatos e moscas, já que estas podem ser vetores⁸ do *Anaplasma sp.*
- É uma vacina produzida artesanalmente e, portanto, sujeita a variação de resposta entre os lotes.
- No caso das vacinas contra babesioses, que são compostas por babésias vivas atenuadas, existe o risco de reversão de virulência⁹ (TIMMS et al., 1990) ou, antagonicamente, da perda da

⁸ Vetor: ser vivo capaz de transmitir agentes infecciosos (doenças).

⁹ Reversão da virulência: quando uma vacina é composta por microrganismos vivos atenuados, mutações genéticas podem ocorrer naturalmente, ao acaso, e torná-los novamente virulentos, ou

imunogenicidade¹⁰ após longo tempo de manutenção *in vitro*¹¹ ou *in vivo*¹², devido ao número excessivo de passagens em frascos de cultura em laboratórios ou em animais esplenectomizados (SHKAP et al., 2007).

- Assim como ocorre com seres humanos, os bovinos também têm diferentes grupos sanguíneos. Como a vacina é constituída por sangue bovino infectado, seu uso pode imunizar as mães contra grupos sanguíneos diferentes do dela (WRIGHT; RIDDLES, 1989), o que pode levar à produção de anticorpos contra hemácias (glóbulos vermelhos). Quando o terneiro recém-nascido possui o mesmo tipo sanguíneo do animal no qual a vacina foi produzida, ao ingerir o colostro, pode haver destruição de suas hemácias, processo conhecido como anemia hemolítica.
- Existe ainda uma forte implicação ética, já que requer a infecção de bovinos esplenectomizados exclusivamente para serem produtores de vacinas. Com a pressão exercida pelos grupos de proteção aos animais, a tendência é que, com o passar do tempo, a legislação proíba o uso de animais para esta finalidade.
- A vacina viva atenuada pode ser congelada (mantida em nitrogênio líquido) ou resfriada. Hoje, no Brasil, existe apenas uma empresa disponibilizando a vacina em sua versão refrigerada, que, além dos riscos inerentes a todas as vacinas compostas por sangue, ainda apresenta como desvantagem o fato de ter vida de prateleira bastante curta. Por esta razão é uma vacina liberada sob encomenda, não havendo disponibilidade de pronta entrega. Além disso, por ter curta vida de prateleira, não permite testes de avaliação da qualidade da partida antes da liberação para o mercado. Quando a vacina é entregue em sua versão congelada, apesar da vida de prateleira ser muito maior, a logística para a

seja, capazes de causar a doença.

¹⁰ Imunogenicidade: capacidade de induzir resposta imunológica e proteger o animal contra futuras infecções. É a base de qualquer vacina.

¹¹ *In vitro*: em frascos de cultura em laboratório.

¹² *In vivo*: no organismo do animal.

comercialização é complexa, dependente de nitrogênio líquido. Se o descongelamento não for adequado, a vacina pode perder a eficácia. O agente criopreservante¹³ utilizado na vacina congelada pode ser o glicerol ou o DMSO¹⁴, dependendo do país (DE WAAL; COMBRINK, 2006).

- No Brasil, a vacina congelada foi adaptada pela Embrapa na década de 1980. Desde então foi oferecida ao setor privado, porém, grandes empresas nunca se interessaram, devido aos custos de produção e pós-vendas, risco de transmissão de patógenos e risco de ações judiciais.

A aplicação destas vacinas requer uma série de cuidados vacinais e pós-vacinais, listados abaixo:

- Deve-se dar atenção ao correto armazenamento da vacina. Se resfriada, manter em geladeira (4°C), sem congelar, e utilizar dentro do prazo determinado. Se congelada, manter em nitrogênio líquido até o uso, quando deve ser rapidamente descongelada de 37 a 40°C.
- Como qualquer outra vacina, deve-se prestar atenção no manejo no dia da vacinação. O estresse interfere no sistema imunológico e, conseqüentemente na resposta vacinal. Assim, vacinar os animais com calma, seguindo as normas de bem-estar animal é o desejável.

¹³ Criopreservante: substâncias químicas que são adicionadas a células ou microrganismos, para que estes não morram no processo de congelamento.

¹⁴ DMSO: dimetilsulfóxido.

- Deve-se ter em mente que o tratamento dos animais com diaceturato, imidocarb ou tetraciclina (drogas que matam as babésias e/ou *A. marginale*) logo após a vacinação impede o estabelecimento da infecção pela cepa vacinal e pode até anular o efeito da vacina (DE WAAL; COMBRINK, 2006).
- No período pós-vacinal é altamente recomendado o acompanhamento médico veterinário, pois pode ocorrer desenvolvimento de sintomas, principalmente em animais acima dos nove meses (DE WAAL; COMBRINK, 2006).
- Uma alternativa à produção das vacinas contra babésias em animais é a produção "in vitro", que já ocorre em pelo menos dois laboratórios na Argentina. Este tipo de produção diminui as implicações éticas, pois os animais não precisam ser esplenectomizados. Porém, mesmo mantidas in vitro, as cepas atenuadas precisam ser cultivadas em sangue bovino, assim, os riscos inerentes à transmissão de patógenos é o mesmo das vacinas produzidas em animais. Ademais, as vacinas contra *Anaplasma* contendo *A. centrale* continuam sendo produzidas apenas in vivo.

Mas, se sabemos que a melhor opção para a prevenção de doenças é a vacinação, por que não temos vacinas mais modernas contra a TPB?

O ideal seria que as vacinas prevenissem a infecção, ou seja, atuassem tão no início do processo, que a infecção nem ocorresse. Na prática, porém, este objetivo é biologicamente impossível de acontecer e as vacinas não previnem completamente a infecção, mas impedem o aparecimento dos sintomas clínicos ou os reduzem (CANAL et al., 2017).

O uso de vacinas ao redor do mundo tem permitido avanços na saúde, humana e animal, inimagináveis há poucos séculos. Doenças como a varíola (humana) e a peste bovina foram, inclusive, consideradas erradicadas no mundo, em 1977 (SMITH; MCFADDEN, 2002) e 2011 (MARINER et al., 2012), respectivamente. A poliomielite (paralisia infantil, que afeta seres humanos) também está em vias de ser erradicada (DOWDLE et al., 2003). Outro exemplo veterinário de controle de doenças por meio da vacinação é o da febre aftosa, que já foi erradicada de várias regiões do mundo e até mesmo do Brasil, onde vários Estados são considerados zonas livres de aftosa com vacinação e Santa Catarina é considerado zona livre sem a necessidade de vacinação.

Mas, se as vacinas podem ser tão eficientes, chegando a possibilitar a erradicação mundial de doenças, por que nem todas as doenças podem ser prevenidas por vacinas ou ainda, para algumas doenças, ainda que haja vacinas, estas não são tão eficientes assim?

A grande maioria das vacinas licenciadas para uso no mercado mundial, tanto para uso humano quanto veterinário, são vacinas produzidas de forma tradicional, ou seja, compostas por microrganismos vivos atenuados, ou inativados, cuja eficácia foi demonstrada por um método denominado empírico. Por este método, ao se atribuir a causa de determinada doença a um microrganismo, tentava-se produzir a vacina pela atenuação ou inativação deste mesmo ou inativação de suas toxinas. Diversas vacinas com excelente qualidade foram, e são, produzidas desta forma. Na medicina veterinária podemos citar, como exemplo, as vacinas contra as clostridioses, tétano, botulismo, febre aftosa, brucelose (GASPAR; SANTOS, 2014).

O método empírico de se produzir vacinas, entretanto, não é universal, não sendo efetivo para qualquer doença. No ponto da ciência em que estamos, as vacinas que poderiam ser produzidas de forma empírica já o foram e restaram os maiores desafios, ou seja, vacinas para doenças cujo método descrito falhou em produzir vacinas com boa qualidade protetora ou que não sejam completamente seguras. Vários fatores técnicos dificultam a obtenção destas vacinas mais “difíceis” de serem conseguidas.

A ciência ruma agora para a obtenção de vacinas “desenhadas” em laboratório,

e que sejam tão ou mais eficientes que as vacinas antigas, mas com vantagens adicionais, principalmente em termos de segurança e custo.

A partir da década de 1970, a manipulação genética de microrganismos permitiu o desenvolvimento de vacinas baseadas em proteínas recombinantes e de vacinas de DNA, que, como o próprio nome diz, são constituídas de fragmentos de DNA do patógeno para o qual se deseja proteção, fornecendo ao organismo do animal imunizado a informação genética necessária para a produção da proteína que o tornará imune, que será produzida pelo animal que recebeu a vacina (LIU, 2003). Este antígeno/imunógeno possuirá as características necessárias para geração de uma boa resposta imunológica, porém sem os efeitos colaterais da imunização com o patógeno. A ferramenta genética abriu portas, inclusive, para a produção de antígenos em plantas. Alfaca, batata, milho e outras plantas modificadas geneticamente para a produção de antígenos podem ser o futuro da vacinologia, já que representam inclusive a possibilidade de minimizar os custos de produção (CHAN; DANIELL, 2015).

Além das vacinas recombinantes ou de DNA, em teoria também é possível manipular geneticamente microrganismos, os atenuando de forma controlada, por deleção de genes de fatores de virulência, o que poderia gerar vacinas mais seguras e facilitaria a diferenciação diagnóstica entre animais vacinados e naturalmente infectados. Para bovinos existe, inclusive, um exemplo desta vacina. É uma vacina contra IBR com vírus cuja proteína E (gE) foi deletada (KAASHOEK et al., 1996, 1998), mas esta vacina não está disponível no Brasil.

Alternativas para a elaboração de vacinas mais eficazes e seguras podem ser destacadas, como o uso de adjuvantes¹⁵ mais potentes, vírions e partículas semelhantes a vírus como carreadores de antígeno/imunógeno (LAURING et al., 2010).

Obviamente, para TPB o ideal seria alcançar este objetivo de vacinas produzidas pela tecnologia do DNA recombinante, já que elas apresentam várias vantagens em relação às vacinas tradicionais, tais como alta reprodutibilidade entre os lotes, baixa indução de efeitos colaterais, baixo custo de produção e, no caso

¹⁵ Adjuvantes: são substâncias adicionadas à vacina que têm por finalidade amplificar a resposta imunológica vacinal.

de vacinas de DNA, a possibilidade de estoque sem refrigeração. Entretanto, apesar dos inúmeros esforços da comunidade científica em testar outros tipos de vacinas, diferentes da hoje existente, os pesquisadores falharam em produzir vacinas mais eficientes e seguras que as atuais.

Diversos fatores contribuem para esta dificuldade em se conseguir uma vacina mais moderna contra TPB, entre eles pode-se destacar:

- Tanto a babesiose quanto a anaplasiose são causadas por microrganismos ditos intracelulares obrigatórios, ou seja, que vivem dentro de uma célula, neste caso as hemácias ou glóbulos vermelhos. Isso, de certa forma, protege os microrganismos do “ataque” pelo sistema imunológico (GOMES et al., 2016);
- As babesioses são causadas por protozoários, seres eucariotos com grande diversidade antigênica¹⁶. Como estes microrganismos possuem muitas proteínas, esta diversidade dificulta o encontro de apenas uma ou poucas proteínas que, usadas isoladamente como antígenos, sejam capazes de proteger os animais do desafio natural;
- Variabilidade genética existente entre os isolados tanto das babésias quanto de *A. marginale*. Para a maioria das proteínas estudadas, quando se compara a sequência de uma proteína com a mesma, de cepas isoladas em áreas geográficas distintas, esta é bastante variável (ESPINOZA et al., 2006), o que, em teoria, faz com que a obtenção de vacinas universais fique prejudicada. Ademais, o mecanismo de variação antigênica, no qual os parasitas modificam a estrutura de seus antígenos após contato com o sistema imunológico, também prejudica a obtenção de vacinas universais (ALLRED; AL-KHEDERY, 2004, 2006).

¹⁶ Diversidade antigênica: antígenos são substâncias que podem ser reconhecidas por anticorpos (moléculas de defesa do hospedeiro) e que podem estimular a resposta imunológica no hospedeiro. Quanto mais complexo o microrganismo, maior o número de antígenos, portanto maior a diversidade antigênica.

Apesar das dificuldades, a comunidade científica continua dispendendo esforços na pesquisa para novos, e mais modernos, antígenos para uso vacinal. No entanto, é importante conhecer a vacina disponível no mercado, para fazer o melhor uso possível e alertar os produtores das suas vantagens e desvantagens.

Perspectivas a serem consideradas

No livro “Carrapatos do Brasil” publicado em 2013 pela Embrapa (ANDREOTTI; KOLLER, 2013) há uma extensa revisão bibliográfica expondo os antígenos já testados contra *B. bovis*, *B. bigemina* e *A. marginale*. Além dos microrganismos inteiros inativados ou atenuados usados para a vacinação de animais susceptíveis, vacinas de subunidades dos mesmos e algumas proteínas recombinantes já foram testadas, mas os resultados de proteção são muito variáveis. No Brasil, pelo fato de a TPB ter importância apenas regional, atualmente poucos grupos de pesquisa trabalham com o desenvolvimento de vacinas contra estas doenças. Na Embrapa Pecuária Sul já foram conduzidos experimentos visando o desenvolvimento de vacinas e pretende-se continuar trabalhando no tema. Há poucos anos os genomas completos dos três parasitas foram anotados, o que abre novas possibilidades na pesquisa por novos antígenos. A anotação do genoma¹⁷ somada ao barateamento do sequenciamento genético¹⁸ e a criação de softwares de bioinformática mais potentes abrem perspectivas jamais vistas no desenvolvimento de novas vacinas. Porém, partir do zero e chegar a uma vacina que possa ser comercializada depende de diversos fatores e os trabalhos podem levar anos a fio até que um produto seja liberado ao mercado.

¹⁷ Genoma: sequência completa de DNA de um organismo.

¹⁸ Sequenciamento genético: técnica que permite a leitura de cada base, na sequência correta, de DNA de um organismo.

Referências

ALLRED, D. R.; AL-KHEDERY, B. Antigenic variation and cytoadhesion in *Babesia bovis* and *Plasmodium falciparum*: different logics achieve the same goal. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 134, n. 1, p. 27-35, Mar. 2004.

ALLRED, D. R.; AL-KHEDERY, B. Antigenic variation as an exploitable weakness of babesial parasites. **Veterinary Parasitology**, v.138, n. 1-2, p. 50-60, May 2006.

ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W. (Ed.). **Carrapatos no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 187 p.

ARTECHE, C. C. P. Imunoprofilaxia da tristeza parasitária bovina (TPB) no Brasil: uso de cepas atenuadas de *Babesia* spp e de cepa heteróloga da *Anaplasma*. **A Hora Veterinária**, v. 11, n. 66, p. 39-42, mar./abr. 1992.

BELL-SAKYI, L.; PALOMAR, A. M.; BRADFORD, E. L.; SHKAP, V. Propagation of the Israeli vaccine strain of *Anaplasma centrale* in tick cell lines. **Veterinary Microbiology**, v. 179, n. 3-4, p. 270-276, Sept. 2015.

BOCK, R. E.; DE VOS, A. J. Immunity following use of Australian tick fever vaccine: a review of the evidence. **Australian Veterinary Journal**, v. 79, n. 12, p. 832-839, Dec. 2001.

BOCK, R. E.; DE VOS, A. J.; KINGSTON, T. G.; MCLELLAN, D. J. Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale*. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, n. 5, p. 337-340, May 1997.

BOCK, R. E.; JORGENSEN, W. K.; MALLOY, J. B. Bovine babesiosis. In: **MANUAL of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. 5th ed. Paris: OIE, 2004. v. 1, p. 507-518.

- CANAL, C. W.; VAZ, C. S. L.; CIBULSKI, S. P. Vacinas víricas. In: FLORES, E. F. **Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 3. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2017. p. 362-394.
- CHAN, H. T.; DANIELL, H. Plant-made oral vaccines against human infectious diseases - are we there yet? **Plant Biotechnology Journal**, v. 13, n. 8, p. 1056-1070, Oct. 2015.
- DALGIESH, R. J.; JORGENSEN, W. K.; DE VOS, A. J. Australian frozen vaccines for the control of babesiosis and anaplasmosis in cattle - a review. **Tropical Animal Health and Production**, v. 22, n. 1, p. 44-52, Feb. 1990.
- DE VOS, A. J.; BOCK, R. E. Vaccination against bovine babesiosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 916, n. 1, p. 540-545, 2000.
- DE WAAL, D. T.; COMBRINK, M. P. Live vaccines against bovine babesiosis. **Veterinary Parasitology**, v. 138, n. 1-2, p. 88-96, May 2006.
- DOWDLE, W. R.; DE GOURVILLE, E.; KEW, O. M.; PALLANSCH, M. A.; WOOD, D. J. Polio eradication: the OPV paradox. **Reviews in Medical Virology**, v. 13, n. 5, p. 277-291, Sept./Oct. 2003.
- ESPINOZA, V. O.; VÁZQUEZ, J. E. S.; AGUILAR, M. D.; ORTIZ, M. Á. G.; ALARCÓN, G. J. C.; RODRÍGUEZ, S. D. *Anaplasma marginale*: lack of cross-protection between strains that share MSP1a variable region and MSP4. **Veterinary Microbiology**, v. 114, n. 1-2, p. 34-40, Apr. 2006.
- GASPAR, E. B.; SANTOS, L. R. **Vacinação de bovinos: esclarecendo algumas dúvidas**. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2014. 36 p. (Embrapa Pecuária Sul. Documentos, 134).
- GOMES, P. S.; BHARDWAJ, J.; RIVERA-CORREA, J.; FREIRE-DE-LIMA, C. G.; MORROT, A. Immune escape strategies of malaria parasites. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, Oct. 17, 2016. Article 1617.
- KAASHOEK, M. J.; RIJSEWIJK, F. A. M.; VAN OIRSCHOT, J. T. Persistence of antibodies against bovine herpesvirus 1 and virus reactivation two to three years after infection. **Veterinary Microbiology**, v. 53, n. 1-2, p. 3-110, Nov. 1996.

KAASHOEK, M. J.; RIJSEWIJK, F. A. M.; RUULS, R. C.; KELI, G. M.; THIRY, E.; PASTORET, P. P.; VAN OIRSCHOT, J. T. Virulence, immunogenicity and reactivation of bovine herpesvirus 1 mutants with a deletion in the gC, gG, gI, gE, or in both the gI and gE gene. **Vaccine**, v. 16, n. 8, p. 802-809, May 1998.

KESSLER, R. E.; SASTRE, A. M.; MOREIRA, M. A.; MADRUGA, C. R.; HONER, M. R. Experiencias con vacunas vivas atenuadas de *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *Anaplasma marginale* y *A. centrale* conservadas por congelacion en Brasil. **Revista Cubana de Ciencias Veterinarias**, v. 22, p. 189-196, 1991.

KOCAN, K. M.; DE LA FUENTE, J.; GUGLIELMONE, A. A.; MELÉNDEZ, R. D. Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 4, p. 698-712, Oct. 2003.

KRIGEL, Y.; PIPANO, E.; SHKAP, V. Duration of carrier state following vaccination with live *Anaplasma centrale*. **Tropical Animal Health and Production**, v. 24, n. 4, p. 209-210, Nov. 1992.

LAURING, A. S.; JONES J. O.; ANDINO, R. Rationalizing the development of live attenuated virus vaccines. **Nature Biotechnology**, v. 28, n. 6, p. 573-579, June 2010.

LIU, M. A. DNA vaccines: a review. **Journal of Internal Medicine**, v. 253, n. 4, p. 402-410, Apr. 2003.

MARINER, J. C.; HOUSE, J. A.; MEBUS, C. A.; SOLLLOD, A. E.; CHIBEU, D.; JONES, B. A.; ROEDER, P. L.; ADMASSU, B.; VAN'T KLOOSTER, G. G. Rinderpest eradication: appropriate technology and social innovations. **Science**, v. 337, n. 6100, p. 1309-1312, Sept. 14, 2012.

SACCO, A. M. S. **Controle de surtos de tristeza parasitária bovina**. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2002. 4 p. (Embrapa Pecuária Sul. Circular técnica, 26).

SACCO, A. M. S. **Controle/profilaxia da tristeza parasitária bovina**. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2001. 3 p. (Embrapa Pecuária Sul. Comunicado técnico, 38).

SACCO, A. M. S.; KESSLER, R. H.; MADRUGA, C. R. Cepas atenuadas de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* e de *Anaplasma centrale* como imunógenos no controle da tristeza parasitária bovina. **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 849-855, set./out. 2001.

SANTOS, L. R. dos; ARAÚJO, F. R.; RAMOS, C. A. do N.; GULIAS GOMES, C. C.; GASPAR, E. B.; BENAVIDES, M. V. Tristeza parasitária bovina: avanços no controle. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W. (Ed.). **Carrapatos no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. p. 51-71.

SHKAP, V.; DE VOS, A. J.; ZWEYGARTH, E.; JONGEJAN, F. Attenuated vaccines for tropical theileriosis, babesiosis and heartwater: the continuing necessity. **Trends in Parasitology**, v. 23, n. 9, p. 420-426, Sept. 2007

SMITH, G. L.; MCFADDEN, G. Smallpox: anything to declare? **Nature Reviews Immunology**, v. 2, n. 7, p. 521-527, July 2002.

TIMMS, P.; STEWART, N. P.; DE VOS, A. J. Study of virulence and vector transmission of *Babesia bovis* by use of cloned parasite lines. **Infection and Immunity**, v. 58, n. 7, p. 2171-2176, July 1990.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology**. 9th ed. St. Louis: Elsevier, 2013. 568 p.

VACCINE. In: ENGLISH Oxford living dictionaries. Oxford: Oxford University Press, 2017. Disponível em: <<https://en.oxforddictionaries.com/definition/vaccine>>. Acesso em: 1º dez. 2017.

VACINA. In: FERREIRA, A. B. H. **Novo dicionário Aurélio da língua portuguesa**. 3. ed. Curitiba: Positivo, 2004. p. 1747.

WRIGHT, I. G.; RIDDLES, P. W. Biotechnology in tick-borne diseases: present status, future perspectives. In: EXPERT CONSULTATION OF BIOTECHNOLOGY FOR LIVESTOCK PRODUCTION AND HEALTH IN DEVELOPING COUNTRIES, 1986, Rome. **Proceedings...** Rome: FAO; New York: Plenum Press, 1989. p. 325-340.

Embrapa

Pecuária Sul

CGPE 14118

MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**

