



CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BoHV-1.1 EM TOUROS COM BALANOPOSTITE PUSTULAR INFECCIOSA

Crespo, S.E.I.¹; Possatti, F.¹; Otonel, R.A.A.¹; Favero, L.M.¹; Balbo, L.C.¹; Alfieri, A.F.¹; Alfieri, A.A.^{1*}

¹Laboratório de Virologia Animal, Depto. Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. *e-mail: alfieri@uel.br

Saúde Única.

Palavras-chave: bovinos, diagnóstico, doenças do sistema reprodutivo.

Introdução

Alphaherpesvirus bovino 1 (BoHV-1) (Família *Herpesviridae*, Subfamília *Alphaherpesvirinae*) é um dos principais patógenos de bovinos pela repercussão sanitária e econômica da infecção em rebanhos de corte e leiteiros em todo mundo. Este vírus pode estar associado a diferentes manifestações clínicas como Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) Vulvovaginite Pustular Infecciosa (IPV) e Balanopostite Pustular Infecciosa (IPB), além de abortamentos, e esporadicamente, encefalites. Com base em suas características antigênicas e moleculares o BoHV-1 pode ser classificado em três subtipos. O subtipo BoHV-1.1 (IBR-like) está principalmente associado a sinais clínicos respiratórios e reprodutivos e menos frequentemente a problemas genitais; já os subtipos BoHV-1.2a (IPV-like) e BoHV-1.2b (IPB-like) estão geralmente associados a infecções genitais em fêmeas e machos, respectivamente (FINO et al., 2012). Nos casos de IPB, os sinais clínicos são limitados ao prepúcio, pênis e, em algumas situações, à porção distal da mucosa uretral, sendo possível observar edema, hiperemia e aumento da temperatura do prepúcio (ALFIERI et al., 1998). O objetivo deste estudo foi pesquisar a presença do BoHV-1 em touros com manifestações clínicas genitais sugestivas de IPB.

Material e métodos

Foram coletados *swabs* de prepúcio e soro de 12 touros não vacinados contra BoHV-1, em uma propriedade localizada no município de Uchôa, São Paulo, no ano de 2014. Dos 12 animais, quatro não apresentavam sinais clínicos, dois estavam convalescentes e já haviam recebido tratamento suporte anteriormente à coleta de material e seis animais apresentavam lesões aparentes com inflamação local e sangramento de mucosa. A detecção de anticorpos contra o BoHV-1 foi realizada por meio da técnica de vírus neutralização (VN) de acordo com o *Terrestrial Manual* da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2012). As amostras (*swabs* de



prepúcio em tampão fosfato-salino) dos seis animais apresentando sinais clínicos foram submetidas a reação em cadeia da polimerase (Semi *Nested* – PCR) para a amplificação de sequências específicas do gene da glicoproteína D (gD) do BoHV-1 conforme descrito por Takiuchi et al. (2005). A cepa padrão utilizada para a validação dos testes (VN e SN-PCR) foi o protótipo *Los Angeles* (BoHV-1) adaptado em cultivo de células MDBK. As duas amostras que geraram *amplicons* (425pb) foram sequenciadas. A árvore filogenética foi construída no software MEGA (v.5.2.2) e matriz de identidade de nucleotídeos (nt) foi obtida utilizando o BioEdit (v. 7.2.5).

Resultados e Discussão

As 12 amostras de soro de touros avaliadas neste estudo pela técnica de VN foram positivas para BoHV-1. De acordo com Fino e colaboradores (2012) a detecção de anticorpos no soro bovino, apesar de não representar uma ferramenta para o diagnóstico etiológico em animais com sinais clínicos, demonstra a presença do vírus no rebanho, inclusive em animais com infecção latente. Esse resultado sugere que o BoHV-1 estava circulante no rebanho, uma vez que, mesmo os animais sem sinais clínicos aparentes foram positivos na VN, sendo que estes animais podem ser responsáveis pela manutenção e perpetuação do vírus no rebanho (ALFIERI et al., 1998; MÉDICI, et al., 2000). No estudo desenvolvido por Médici et al. (2000) o alto índice de animais soropositivos indica que a maioria das infecções por BoHV-1 no Brasil são negligenciadas e podem ser confundidas com outras enfermidades infectocontagiosas que determinam sinais clínicos semelhantes. Na SN-PCR foi possível amplificar o produto com tamanho molecular esperado em duas das seis amostras avaliadas. A análise filogenética permitiu classificar as duas cepas (BR-UEL703 e BR-UEL1870) no subtipo BoHV-1.1, pois apresentaram alta identidade (99,6%) de nt e agruparam no mesmo *cluster* das cepas MN6, Abu-Hammad e 97-11 (Figura 1).

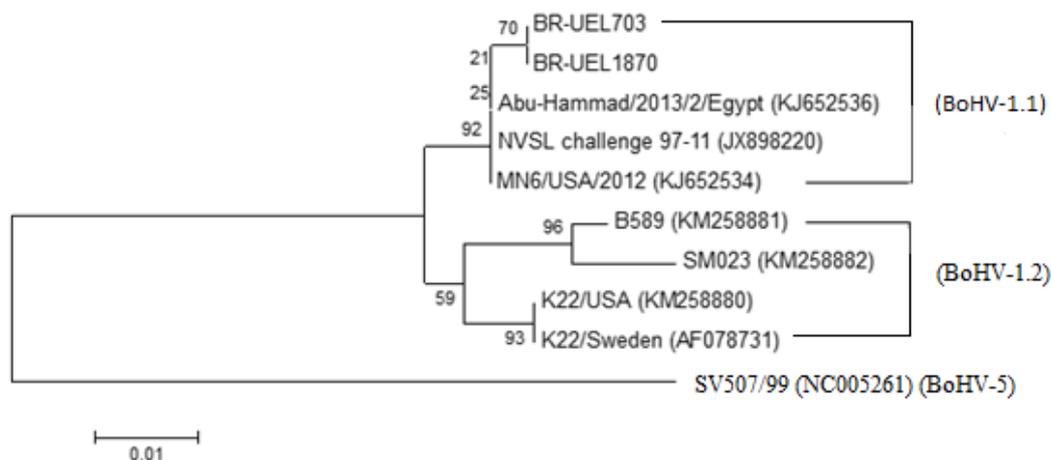


Figura 1 – Árvore filogenética construída com o método Neighbor-joining e modelo Kimura 2-parâmetros baseada nas sequências de nt do gene gD do BoHV-1 (425pb) demonstrando que as cepas avaliadas pertencem ao subtipo BoHV-1.1. A cepa SV507/99 (BoHV-5) foi utilizada como *outgroup*.

A identidade de nt entre as duas cepas deste estudo foi de 100%, sugerindo a circulação de cepas homólogas no rebanho. Os resultados das análises sorológica e molecular indicam a presença do BoHV-1.1 no rebanho como possível agente etiológico responsável pelos episódios de IPB nos touros com sinais clínicos. Apesar do gene estudado (gD) ser conservado e da alta identidade entre as amostras deste estudo e as cepas detectadas em outras regiões geográficas, as cepas brasileiras agruparam em um *subcluster* distinto sugerindo pequenas diferenças moleculares entre elas. Os resultados obtidos concordam com Silva (2009) que observou que o BoHV-1.1 não está estritamente associado com seus respectivos sinais clínicos e pode estar envolvido em infecções genitais em bovinos que frequentemente são atribuídas a outros subtipos virais como o BoHV-1.2a.

Conclusões

Este é o primeiro relato da caracterização do subtipo BoHV-1.1 em touros com sinais clínicos de IPB no Brasil e esses resultados demonstram a importância de incluir o BoHV-1 no diagnóstico diferencial de manifestações clínicas genitais em bovinos. Adicionalmente, os resultados reforçam a importância da caracterização molecular de cepas de BoHV-1 identificadas em casos clínicos com o objetivo de intensificar os estudos relativos a patologia e epidemiologia das infecções.

Suporte financeiro: CNPq, CAPES e Fundação Araucária.



Referências

ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F.; MÉDICI, K.C. Consequências da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 sobre o sistema reprodutivo de bovinos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.19, n.1, p.86-93, 1998.

FINO, T.C.M.; MELO, C.B.; RAMOS, A.F.; LEITE, R.C. Infecções por herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e suas implicações na reprodução bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.36, n.2, p.122-127, 2012.

MÉDICI, K.C.; ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F. Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1, decorrente de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.2, p. 347-350, 2000.

OIE. World Organization for Animal Health. Infectious Bovine Rhinotracheitis/ Infectious Pustular Vulvovaginitis. Terrestrial Manual, 2012. Capítulo 2.4.12, p. 9-10. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.12_IBR_IPV.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2016.

SILVA, M.S. Identificação molecular de herpesvírus bovino tipos 1 e 5. 2009. 69f. Tese (Doutorado) - Fisiopatologia da Reprodução – Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria/ RS, 2009.

TAKIUCHI, E.; MÉDICI, K.C.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI A.A. Bovine herpesvirus type 1 abortions detected by a semi nested PCR in Brazilian cattle herds. **Veterinary Science**, [s.l.], v.79, n.1, p. 85-88, 2005.