

PREVALÊNCIA DE HERPESVÍRUS BOVINO TIPOS 1 E 5 (BoHV-1 e BoHV-5) NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL – BRASIL

HOLZ, C.L.¹; CIBULSKI, S.P.¹; TEIXEIRA, T.F.¹; CAIXETA, S.P.M.B.¹; BATISTA, H.B.C.R.²; CAMPOS, F.S.²; ROEHE, L.R.²; OLIVEIRA, M.T.²; SILVA, J.R.¹; DEZEN, D.¹; VARELA, A.P.M.¹; FRANCO, A.C.²; ROEHE, P.M.^{1, 2, #}

1. Equipe de Virologia, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), Estrada do Conde 6000, Eldorado do Sul, RS. 92990-000

2. Laboratório de Virologia, DM-ICBS/ UFRGS, Porto Alegre, RS, Av Sarmiento Leite 500 sala 208, CEP 90050-170.

#Endereço para correspondência: Caixa Postal 2076, Porto Alegre, RS, Brasil, CEP 90 001 970. Tel.: 51. 3481 37 11. Fax: 51.3481 33 37. E-mail: proehe@gmail.com

Abstract

This study was carried out to estimate the seroprevalence of antibodies to bovine herpesvirus types 1 (BoHV-1) and 5 (BoHV-5) in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, against different BoHV-1 and BoHV-5 strains. The sera examined were extracted from a larger sample designed to estimate the prevalence of bovine brucellosis within the state. All sera were collected from cows 24 months or older, not vaccinated to bovine herpesviruses, from both dairy and beef herds. Sera from 2,200 cattle from 390 farms distributed in 158 municipalities were tested in serum neutralization (SN) tests in search for antibodies to the following viruses: BoHV-1.1 strains EVI123/98 and Los Angeles, BoHV-5a strain EVI88/95 and BoHV-5b strain A663. The overall prevalence of antibodies to BoHV-1 and BoHV-5 in the sampled herds was 29.2% (642/2,200); seropositive animals were detected in 225 (57.7%) of the sampled farms. Prevalence estimates varied according to the virus used for challenge in SN tests. The highest prevalence was attained when positive SN results against the four different strains were added together. The use of only one virus for challenge in SN tests would lead to a loss in sensitivity between 20.4% a 34.6 % when compared to the combined SN-positive results. These findings provide evidence that antibodies to BoHV-1 and BoHV-5 are largely spread in dairy and beef herds in Rio Grande do Sul, although prevalence in distinct geographic regions is quite variable. The results were strongly affected by the virus strains used for challenge in SN testing. This must be taken into account when performing serologic tests to detect BoHV-1 and BoHV-5 antibodies. As the SN is not capable of discriminating antibody responses to BoHV-1 and BoHV-5, type-specific prevalence remains unknown.

Key-words: BoHV-1, BoHV-5, epidemiology, seroprevalence.

Resumo

Este estudo objetivou estimar a prevalência de anticorpos contra os herpesvírus bovinos tipos 1 e 5 (BoHV-1 e BoHV-5) no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, frente a diferentes cepas de BoHV-1 e BoHV-5. As amostras de soro

utilizadas foram extraídas de uma amostragem mais ampla, desenhada para estimar a prevalência de brucelose bovina no Estado. Todos os soros foram coletados de vacas de 24 meses de idade ou mais, não vacinadas contra herpesvírus bovinos, de rebanhos de corte e leite. Foram examinados 2200 soros, provenientes de 390 propriedades e 158 municípios. Os soros foram analisados na busca de anticorpos contra BoHV-1 e BoHV-5 pela técnica de soroneutralização (SN), executada frente a quatro cepas de vírus distintas EVI123/98 e Los Angeles (BoHV-1.1); EVI88/95 (BoHV-5a) e A663 (BoHV-5b). A prevalência média de anticorpos contra BoHV-1 e BoHV-5 nos animais amostrados foi 29.2% (642/2200). Do total de 390 propriedades testadas contra o BoHV-1 e 5, foram encontrados animais reagentes em 57,7% (225/390) dos rebanhos amostrados. Com relação aos municípios analisados, 63,9% apresentavam pelo menos uma propriedade com animais positivos. As estimativas de prevalência variaram dependendo do vírus utilizado para o desafio nos testes de SN. A prevalência mais alta foi revelada quando os resultados positivos à SN frente aos quatro vírus distintos foram somados. O uso de somente um vírus de desafio na SN levaria a perdas de sensibilidade de 25% a 38.4 %, quando comparada com os resultados positivos combinados. Estes achados evidenciam que anticorpos contra BoHV-1 e BoHV-5 estão amplamente difundidos nos rebanhos do Estado, embora a prevalência em distintas regiões geográficas seja bastante variada. Os resultados obtidos nas estimativas de prevalência foram fortemente afetados pelas diferentes amostras de vírus usadas nos testes de SN. Esse fato deve ser levado em consideração quando estudos sorológicos para BoHV-1 e BoHV-5 forem realizados. Como a SN não é capaz de discriminar as respostas de anticorpos para BoHV-1 e BoHV-5, a prevalência tipo-específica permanece desconhecida.

Palavras chave: BoHV-1, BoHV-5, epidemiologia, soroprevalência.

Introdução

Os herpesvírus bovinos tipos 1 (BoHV-1) e 5 (BoHV-5) são importantes agentes infecciosos responsáveis por significativas perdas econômicas à bovinocultura. Estes vírus pertencem à família *Herpesviridae* e subfamília *Alphaherpesvirinae* (Roizmann & Pellett, 2007; Thiry et al., 2007). Dentre estes vírus, o mais importante e reconhecido é o BoHV-1 que é responsável pela Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), Vulvovaginite pustular/Balanopostite pustular infecciosa (IPV/IPB) (Franco & Roehe, 2007). Por outro lado, o BoHV-5 vem despertando crescente interesse devido a sua disseminação aparentemente mais ampla no Hemisfério Sul. Por sua vez, ele é o agente etiológico da encefalite herpética bovina (Roizmann & Pellett, 2007).

Após infecção aguda estes agentes permanecem em latência, alojando-se em gânglios sensoriais (Franco & Roehe, 2007). O estabelecimento da latência e eventuais reativações representam pontos-chave na biologia dos herpesvírus, pois permitem a permanência indefinida do vírus nos hospedeiros, com episódios esporádicos de reativação e disseminação viral, determinando assim, a perpetuação da infecção nos rebanhos (Franco & Roehe, 2007).

No Brasil, as evidências obtidas indicam que é alta a prevalência de infecções por BoHV-1; porém, ainda não é possível determinar que percentagem de animais soropositivos para BoHV-1 foi de fato infectada com BoHV-5, (ou por

ambos), pois, sorologicamente, ainda não é clara a diferenciação entre infecções com BoHV-1 e 5.

O objetivo desse estudo foi estimar a soroprevalência das infecções por BoHV-1 e BoHV-5 no Estado do Rio Grande do Sul frente a uma combinação de diferentes cepas destes agentes, objetivando detectar animais soropositivos com maior eficácia e maior sensibilidade.

Material e Métodos

Amostragem e coleta de dados

O presente estudo foi realizado utilizando amostras de soro coletadas para um levantamento epidemiológico desenhado para avaliar a prevalência de brucelose. Sobre estas foi efetuado um novo cálculo amostral baseado em uma expectativa de prevalência de infecções por BoHV-1 e BoHV-5 da ordem de 33%, considerando um erro padrão não superior a 1% e um intervalo de confiança de 95%. Para que o número de amostras fosse mais representativo do Estado, a partir da amostragem inicial disponível foi preparado um extrato contendo o número de amostras de soro proporcionalizado ao tamanho do rebanho de cada meso/microrregião do RS, com base nos dados estimados pelo IBGE para a população bovina do RS (IBGE, 2006). De acordo com essa fonte, o Estado foi subdividido em 7 mesorregiões e 35 microrregiões (Tabela 1), das quais foram selecionadas 2200 amostras, de 390 propriedades e 158 municípios, escolhidas aleatoriamente. Foram excluídas da seleção as amostras provenientes de rebanhos onde a vacinação contra BoHV-1 era praticada. Todas as amostras de soro foram inativadas em banho-maria a 56° C por 30 minutos e estocadas a -20° C até o momento do uso.

Vírus e células

Para os testes de soroneutralização foram utilizadas células de rim de bovino *Madin Darby Bovine Kidney* (MDBK, originária da ATCC; CCL-22) cultivadas em meio mínimo essencial de Eagle (MEM; Gibco) suplementadas com 10% de soro fetal bovino (SFB; Soraly) e antibióticos (Penicilina e Estreptomicina) em concentrações usuais (Paul, 1970). As células foram tripsinizadas a cada 3-4 dias e cultivadas seguindo métodos usuais (Paul, 1970).

As amostras virais utilizadas foram: BoHV-1.1. Los Angeles (LA), BoHV-1.1. EVI123/98, BoHV-5a EVI88/95 e BoHV-5b A663. A multiplicação e titulação das cepas virais foram realizadas em células MDBK como descrito previamente (Roehe et al., 1997).

Testes de Soroneutralização

A pesquisa de anticorpos neutralizantes para BoHV-1 e BoHV-5 foi realizada frente a cada uma das quatro amostras de vírus mencionadas acima, individualmente, utilizando-se a técnica de soroneutralização (SN; Deregt et al., 1993), com diluições $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ de cada soro e incubação da mistura soro-vírus de uma hora antes da adição das células. A leitura final dos resultados foi realizada pela avaliação da presença ou ausência de efeito citopático. Os resultados foram calculados pelo método de Reed e Muench e expressos como positivo (título =2) ou negativo (título <2).

Resultados e Discussão

Dentre os 2200 soros bovinos examinados, 29,2% foram positivos frente à pelo menos uma das quatro cepas de vírus utilizadas nos testes de SN. Houve diferença nos resultados dos testes frente às diferentes cepas virais utilizadas (Tabela 1).

Tabela 1. Diferença dos valores de prevalência das SN frente a diferentes cepas de BoHV-1 e 5

Quantidade de cepas utilizadas	Diferença dos valores de prevalência
1 cepa	19,1-23,2%
2 cepas	24,5-27%
3 cepas	27-28,3%
4 cepas	29,2%

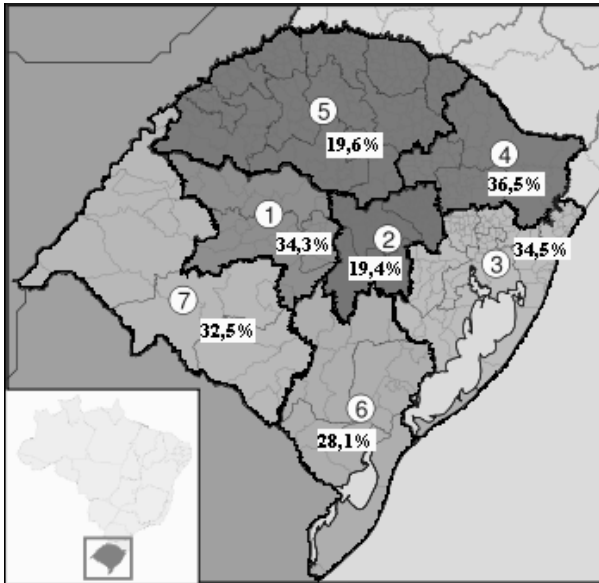
Ao utilizar-se apenas uma cepa viral a prevalência encontrada foi reduzida (tabela 1). A não detecção de amostras soropositivas equivale à não detecção de animais potencialmente disseminadores da infecção, o que pode comprometer seriamente eventuais programas de erradicação e controle, onde a eficácia na identificação de soropositivos é crítica. Esse fenômeno pode vir a comprometer estratégias de controle e erradicação desses herpesvírus.

Do total de 390 propriedades testadas contra o BoHV-1 e 5, foram encontrados animais reagentes em 57,7%. Com relação aos municípios analisados, 63,9% apresentavam pelo menos uma propriedade com animais positivos.

As diferenças entre os resultados encontrados neste trabalho e os levantamentos sorológicos realizados anteriormente no RS (Ravazzolo et al., 1989; Vidor et al., 1995) podem ser apontadas como sendo conseqüência do tipo de população bovina estudada ou pelas técnicas utilizadas. Os resultados anteriores não podem ser considerados como reflexo da situação da infecção no Estado devido ao pequeno número de amostras analisadas ou por representarem grupos populacionais específicos.

Nas diferentes mesorregiões do Estado, podem ser percebidas diferenças significativas nas prevalências (Figura 1). Essas diferenças podem ser explicadas devido a forma como os animais são criados e manejados nestas diferentes mesorregiões. Além disso, fatores climáticos e geográficos também podem influenciar nestas diferenças.

Figura 1. Soroprevalência* de anticorpos contra herpesvírus bovinos tipos 1 e 5 de acordo com as mesorregiões do Estado do Rio Grande do Sul.



Mesorregiões:
 1: Centro Ocidental
 2: Centro Oriental
 3: Metropolitana de Porto Alegre
 4: Nordeste
 5: Noroeste
 6: Sudeste
 7: Sudoeste

* Soroprevalência média, expressa em percentagens calculadas sobre o total de amostras examinadas em cada mesorregião.

Conclusões

Estes resultados sugerem que as infecções por BoHV-1 e BoHV-5 estão amplamente disseminadas no Estado. Entretanto, não foi possível discriminar entre animais infectados por um ou outro tipo de vírus, em função do tipo do teste aqui empregado.

Agradecimentos

Agradecimentos ao professor Lucas Veiga (UFCSPA) e ao Núcleo de Apoio Estatístico da UFRGS pelo auxílio nas análises estatísticas dos dados e ao Instituto de Pesquisas Veterinárias onde o trabalho pode ser realizado. Apoio financeiro CNPq, FEPAGRO, FAPERGS, CAPES.

Referências

Deregt D., Cho H.J.C. & Kozub G.C. 1993. A comparative evaluation of two sensitive serum neutralization tests for bovine herpesvirus-1 antibodies. Canadian Journal of Veterinary Research. 57:56-59.

Franco A.C. & Roehle P.M. 2007. Herpesviridae, p. 433-488. In: Flores, E.F. Virologia Veterinária. 1ª ed. Ed. Da UFSM, Santa Maria.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa da Pecuária Municipal 2006. <http://www.ibge.gov.br> (acessado em 25/Nov/2007).

Paul J. 1970. Cell and tissue cultures. 4ªed. London: E.& S., Livingstone.

Ravazzolo A.P., Dal Pizzol M. & Moojen V. 1989. Evidência da presença de anticorpos para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos em alguns municípios do Estado do Rio Grande do Sul. Arquivos da Faculdade de Veterinária-UFRGS :98-95.

Roehe P.M., Silva T.C., Nardi N.B., Oliveira L.G. & Rosa J.C.A. 1997. Diferenciação entre os vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (BHV-1) e vírus da encefalite bovina (BHV-5) com anticorpos monoclonais. Pesq. Vet. Bras.17(1):41-44.

Roizmann B. & Pellett P.E. 2007. The family Herpesviridae, a brief introduction, p. 2480-2497. In: Knipe, M.D. & Howley, P.M. Field's Virology. 5^aed. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia-USA.

Thiry J., Widén F., Grégoire F., Linden A., Belák S. & Thiry E. 2007. Isolation and characterisation of a ruminant alphaherpesvirus closely related to bovine herpesvirus 1 in a free-ranging red deer. BioMed Central Veterinary Research 3(26).

Vidor T., Halfen D.C., Leite T.E. & Coswig L.T. 1995. Herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1): sorologia de rebanhos com problemas reprodutivos. Ciência Rural 25(3):420-424.