

## Replicação e excreção viral durante a infecção aguda e após a reativação da latência induzida por dexametasona em bezerros inoculados com os herpesvírus bovinos tipo 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5)<sup>1</sup>

Viral replication and shedding during acute infection and after dexamethasone induced reactivation of latency in calves inoculated with bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) and 5 (BHV-5)

Fernanda Silveira Flores Vogel<sup>2</sup> Marcelo de Lima<sup>3</sup> Eduardo Furtado Flores<sup>4</sup> Rudi Weiblen<sup>5</sup> Evandro Reinoldo Winkelmann<sup>6</sup> Sandra Vanderli Mayer<sup>3</sup> Ketty Cristina Mazzutti<sup>6</sup> Sandra Arenhart<sup>6</sup>

### - NOTA -

#### RESUMO

Nesse estudo, comparou-se a eficiência de estabelecimento e reativação da infecção latente pelos herpesvírus bovinos tipos 1 e 5 (BHV-1 e 5) em bezerros. Bezerros inoculados pela via intranasal com uma amostra de BHV-1 (SV-265, n=6) ou BHV-5 (SV-507, n=6) apresentaram corrimento nasal discreto a moderado e excretaram vírus em secreções nasais em títulos de até  $10^{7.81}$  DICC<sub>50</sub>/ml (dose infectante para 50% dos cultivos celulares) durante um período médio de 10,5 dias (6-15 [BHV-1]) ou títulos de até  $10^{6.7}$  DICC<sub>50</sub>/ml durante 15,3 dias (13-18 [BHV-5]). A administração de dexametasona (Dx; 0,5mg/kg, via endovenosa) aos 60 dias pós-inoculação (pi) resultou em reativação da infecção em todos os animais inoculados. O vírus foi detectado em secreções nasais dos bezerros inoculados com o BHV-1 em títulos de até  $10^{5.5}$  DICC<sub>50</sub>/ml por 6 a 9 dias ( $\bar{x}$ : 7,8) e em títulos de até  $10^{6.1}$  DICC<sub>50</sub>/ml (durante 3 a 12 dias,  $\bar{x}$ : 7,5 dias) nos bezerros inoculados com o BHV-5. Os resultados obtidos demonstraram que tanto o BHV-1 quanto o BHV-5 foram capazes de estabelecer e reativar a infecção latente em níveis semelhantes.

**Palavras-chave:** herpesvírus bovino tipo 1, BHV-1, BHV-5, dexametasona, infecção latente.

#### ABSTRACT

The efficiency of the establishment and reactivation of latent infection by bovine herpesviruses types 1 and 5 (BHV-1 and 5) was compared. Calves inoculated intranasally with BHV-1 (SV-265, n=6) or BHV-5 (SV-507, n=6) presented a mild to moderate nasal discharge and shed virus in nasal secretions in titers up to  $10^{7.81}$  TCID<sub>50</sub>/ml (mean tissue culture infectious dose) during an average of 10.5 days (6-15 [BHV-1]) or up to  $10^{6.7}$  TCID<sub>50</sub>/ml during 15.3 days (13-18 [BHV-5]). Dexamethasone administration (Dx; 0.5mg/kg) at day 60pi resulted in reactivation of the infection in all calves. Virus shedding in nasal secretions was detected in titers up to  $10^{5.5}$  TCID<sub>50</sub>/ml during 6 to 9 days (mean: 7.8) in calves inoculated with BHV-1 and in titers up to  $10^{6.1}$  TCID<sub>50</sub>/ml (3 to 12 days, mean: 7.5) in calves inoculated with BHV-5. These results showed that BHV-1 and BHV-5 were capable of establishing and reactivating the latent infection at comparable levels.

**Key words:** bovine herpesvirus type 1, BHV-1, BHV-5, dexamethasone, latent infection.

<sup>1</sup>Trabalho realizado com suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Financiadora de projetos (FINEP), (Pronex em Virologia Veterinária, 215/96).

<sup>2</sup>Médico Veterinário, MSc, Doutor.

<sup>3</sup>Mestrando em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

<sup>4</sup>Médico Veterinário, MSc, Doutor, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Rurais, e Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFSM, 97105-900 Santa Maria, RS. Bolsista do CNPq (520758/96-0). Fone/fax: 55-220-8034. E-mail: flores@ccr.ufsm.br. Autor para correspondência.

<sup>5</sup>Médico Veterinário, MSc, Doutor, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Rurais, e Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFSM. Bolsista do CNPq(520161/97-1).

<sup>6</sup>Estudante do curso de Medicina Veterinária, UFSM. Bolsista de Iniciação Científica, CNPq.

Os herpesvírus bovinos tipos 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5) são vírus DNA, envelopados, membros da família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae (ROIZMAN, 1992). O BHV-1 apresenta distribuição mundial e a infecção de bovinos soronegativos pode resultar em doença respiratória, genital ou abortos (KAHRS, 2001). O BHV-5, previamente classificado como um subtipo do BHV-1, tem sido associado a surtos esporádicos de meningoencefalite em vários países, inclusive no Brasil (STUDDERT, 1989; WEIBLEN et al., 1989). O BHV-1 e o BHV-5 são muito semelhantes nos aspectos morfológicos, antigênicos e moleculares, mas diferem no potencial neuropatogênico (METZLER et al., 1986). O BHV-1 geralmente não replica no sistema nervoso central (SNC), enquanto o BHV-5 invade e replica no SNC produzindo doença neurológica severa (STUDDERT, 1989; MEYER et al., 2001).

Já foi demonstrado que tanto o BHV-1 quanto o BHV-5 estabelecem infecção latente nos seus hospedeiros após a infecção aguda (ROCK, 1994; ASHBAUGH et al., 1997; PEREZ et al., 2002). No entanto, diferenças importantes na região do gene relacionado à latência LAT/LTR entre o BHV-1 e BHV-5 sugerem que esses vírus possam diferir na capacidade de estabelecer e reativar a infecção latente (DELHON et al., 2003). O presente estudo teve como objetivo comparar a eficiência de estabelecimento e reativação da infecção latente pelo BHV-1 e BHV-5 em bezerros.

Seis bezerros soronegativos foram inoculados pela via intranasal com a amostra SV-265 de BHV-1 (FRANCO et al., 2002; dose de  $10^6$  DICC<sub>50</sub>- doses infectantes para 50% dos cultivos) e seis com a amostra SV-507 de BHV-5 (DELHON et al., 2003; dose de  $10^6$  DICC<sub>50</sub>). Os dois grupos foram mantidos a campo, em poteiros distantes para evitar infecção cruzada. Nos dias seguintes à inoculação, secreções nasais coletadas foram submetidas à pesquisa e quantificação de vírus. Sessenta dias após a inoculação (pi), todos os animais foram submetidos à administração de Dexametasona (Dx; dose única de 0,5mg/kg; via intravenosa); e nos dias seguintes (pós-dexametasona, pDx) as secreções nasais foram submetidas à pesquisa e quantificação de vírus. Células MDBK foram utilizadas para isolamento de vírus e testes de soro-neutralização (SN). Todos os procedimentos de coleta de material e pesquisa de vírus em secreções nasais foram executados por duas equipes independentes de técnicos, para evitar contaminação entre os grupos e amostras. Mesmo assim, a identidade dos vírus isolados foi confirmada por imunofluorescência indireta (IFI) das células inoculadas, utilizando-se um anticorpo monoclonal que é capaz de

diferenciar BHV-5 de BHV-1 (OLDONI et al., 2004). Amostras de soro coletadas após a infecção aguda (30dpi) e após a reativação foram submetidas à pesquisa de anticorpos neutralizantes contra o BHV-1 e BHV-5 pela técnica de SN.

Os animais inoculados com o BHV-1 excretaram vírus nas secreções nasais do dia 1 ao dia 15 pi e os animais inoculados com o BHV-5 excretaram vírus do dia 1 ao dia 18 pi (Tabela 1). O pico de excreção viral para os dois vírus ocorreu entre os dias 3 e 5 pi (títulos máximos de  $10^{7,8}$  DICC<sub>50</sub>/ml para o BHV-1; e de  $10^{6,7}$  DICC<sub>50</sub>/ml no grupo do BHV-5). Os animais inoculados apresentaram apenas corrimento nasal discreto, passando de mucoso a mucopurulento entre os dias 4 e 9 pi. Todos os animais inoculados soroconverteram para os respectivos vírus após a infecção aguda, com títulos de anticorpos neutralizantes que variaram de 8 a 128 no dia 30 pi (Tabela 1).

A administração de Dx no dia 60 pi resultou em reativação viral em todos os animais inoculados, iniciando entre os dias 4 e 6 pDx (BHV-1); e entre os dias 1 e 8 pDx (BHV-5). O pico de excreção viral foi detectado entre os dias 7 e 10 pDx. O maior título viral excretado foi de  $10^{5,5}$  DICC<sub>50</sub>/ml para o BHV-1; e de  $10^{6,1}$  DICC<sub>50</sub>/ml (BHV-5). Nenhuma alteração clínica foi observada após a administração de Dx. A soroconversão ao BHV-1, tanto após a infecção aguda quanto após a reativação, foi de magnitude maior do que para o BHV-5. O significado dessas observações merece investigação.

Os resultados demonstraram que tanto o BHV-1 quanto o BHV-5 foram capazes de estabelecer e reativar a infecção latente em níveis semelhantes. Embora durante a infecção aguda o BHV-5 tenha sido excretado durante um período maior (15,1 dias contra 10,5 dias do BHV-1), após a reativação os dois vírus foram excretados com duração semelhante (BHV-1: 7,8 dias; BHV-5: 7,5 dias) e em títulos semelhantes. Portanto, considerando-se a excreção viral mensurável por meio de isolamento e quantificação de vírus, pode-se concluir que o BHV-1 (SV-265) e o BHV-5 (SV-507) foram capazes de estabelecer e reativar infecções latentes em níveis semelhantes em bezerros inoculados. Esses resultados sugerem que as diferenças observadas entre estes vírus no gene associado à latência (LAT/LTR; DELHON et al., 2003) parecem não se refletir em capacidade distinta em estabelecer e reativar a infecção latente. Não se pode desconsiderar, no entanto, que podem existir diferenças entre amostras de campo de BHV-1 e BHV-5 e também diferenças de expressão do LAT/LTR ou ainda genes equivalentes entre esses vírus.

