

Caracterização de tipos e subtipos de amostras de Herpesvírus bovinos pela análise de um fragmento do gene que codifica a gB

Strelczuk, G.¹; Campos, F.S.¹; Fontoura, F.E.¹; Oliveira, M.T.¹; Firpo, R.¹; Franco, A.C.¹; Roehe, P.M.^{1,2}

¹ Laboratório de Virologia – Instituto de Ciências Básicas da Saúde - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS - Brasil

² Fepagro Saúde Animal - Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor – Eldorado do Sul, RS - Brasil

INTRODUÇÃO

Os herpesvírus bovinos tipos 1 (BoHV-1) e 5 (BoHV-5) são membros da família *Herpesviridae*. O BoHV-1 é um agente etiológico importante de doenças respiratórias e reprodutivas, enquanto o BoHV-5 é responsável pela encefalite herpética bovina, doença geralmente fatal que afeta principalmente animais jovens. Com base em associações entre genótipos e sinais clínicos, as amostras de BoHV-1 foram divididas em subtipos denominados BoHV-1.1 e BHV-1.2. O subtipo 2 foi ainda subdividido em BHV-1.2a e BHV-1.2b. Já as amostras de BoHV-5 apresentam os subtipos “a”, “b”, e “c”. A epidemiologia das infecções por BoHV-1 e BoHV-5 se confunde face às similaridades antigênicas entre estes dois tipos de vírus e seus subtipos. As semelhanças são tão marcantes que testes sorológicos são incapazes de diferenciar as respostas imunológicas frente a tais infecções e o diagnóstico diferencial destes agentes somente se tornou possível com o desenvolvimento de técnicas moleculares. No entanto, para um melhor entendimento da epidemiologia dessas infecções, a capacidade de diferenciação entre tipos e subtipos é importante, pois tal diferenciação pode estar relacionada a diferentes graus de adaptação à espécie hospedeira.

OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo caracterizar 150 isolados de BoHV-1 e BoHV-5 baseado na análise de um fragmento de 549 pares de base do gene UL27 que codifica a glicoproteína B (gB).

MATERIAIS E MÉTODOS

- Vinte amostras de BoHV-1 e BoHV-5 foram multiplicadas em células de rim de bovino (linhagem CRIB) seguindo métodos usuais (Roehe et al., 1997).;
- As extrações do DNA total (DNA bovino e DNA viral) foram realizadas com fenol seguindo protocolos padronizados (Sambrook and Russell, 2001);
- A padronização da reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada ajustando as concentrações de reagentes e a temperatura e duração de cada ciclo;
- As amostras foram amplificadas por PCR;
- Foram clonados os amplicons correspondentes ao fragmento do gene *gB*;
- Os produtos clonados foram sequenciados e as sequências analisadas.

RESULTADOS

A análise da sequência alvo permitiu diferenciar as amostras em BoHV-1 e seus subtipos. Até o momento foram sequenciadas 20 amostras, sendo 4 caracterizadas como BoHV-1 subtipo 1.1, 4 como BoHV-1.2 e 12 como BoHV-5. As amostras de BoHV-5 ainda não puderam ser discriminadas em seus subtipos.

DISCUSSÃO

A região amplificada do gene UL27 permitiu a diferenciação entre os subtipos 1 e 2 de BoHV-1, porém não permitiu a diferenciação entre subtipos de BoHV-5. Será necessário examinar outras regiões genômicas para diferenciação deste tipo de vírus.

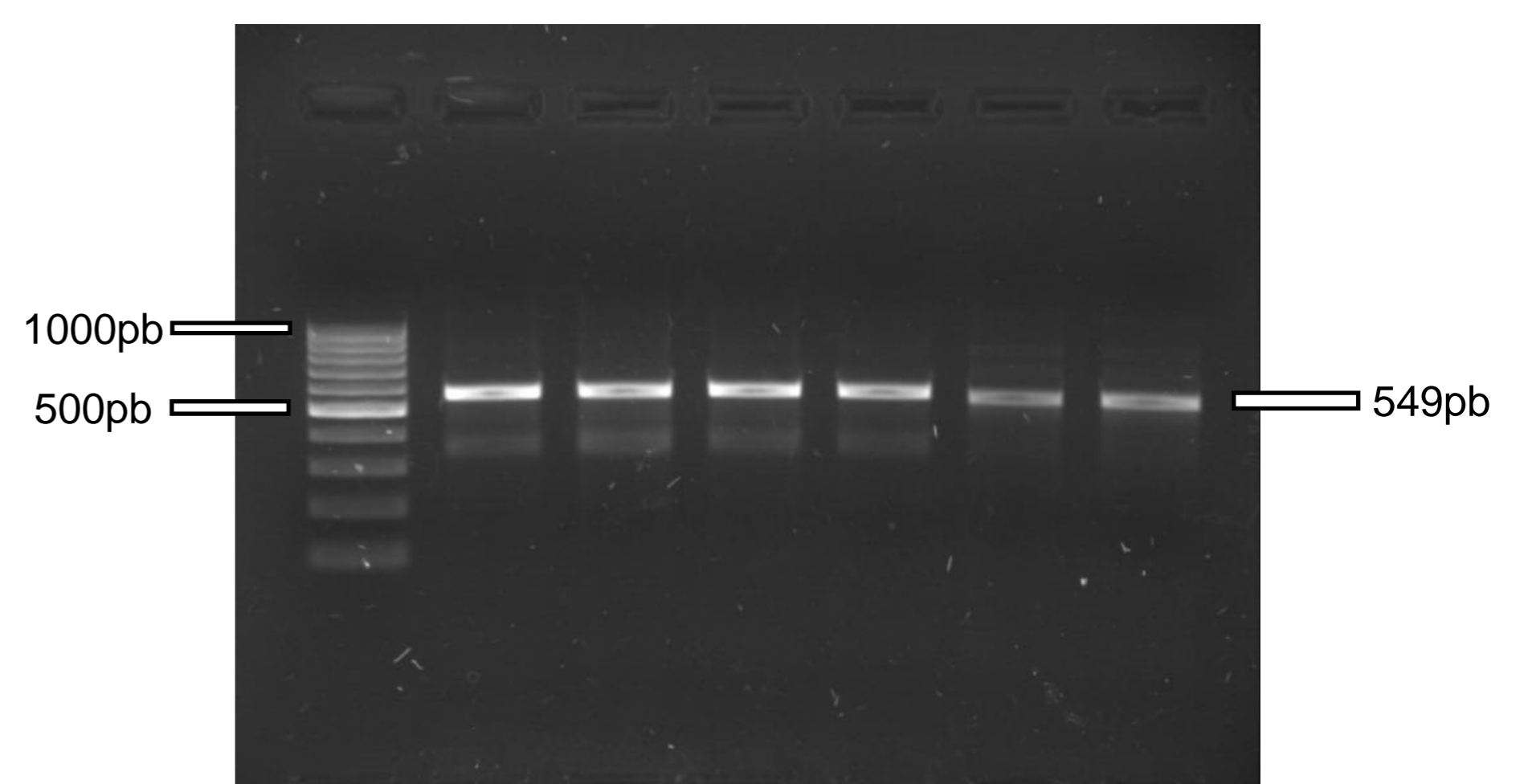


Fig.1 Produtos de PCR de 549 pb correspondentes à região amplificada do gene *UL27* de diferentes isolados de BoHV-1 e BoHV-5. Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio.

CONCLUSÃO

A análise da região amplificada do gene *UL27* permitiu a discriminação entre subtipos de BoHV-1. Porém, as amostras de BoHV-5 não puderam ser discriminadas satisfatoriamente.

É necessário examinar outras regiões genômicas com o objetivo de subtipificar amostras do tipo 5.

Uma região do gene *UL54* será amplificada para permitir a caracterização dos isolados de BoHV-5.

REFERÊNCIAS

MAIDANA S., LA DELFA M., PÉREZ S., LOMÓNACO P., ZAJAC P., ÓDEON A., VIERA J., COMBESSIES G., FONDEVILA., PALACIOS M., THIRY J., MUYLKENS B., THIRY E., ROMERA S.. **Characterization of BoHV-5 field strains circulation and report of transient specific subtype of bovine herpesvirus 5 in Argentina** BMC Veterinary Research, 7:8, 2011.

OLIVEIRA, M. T., CAMPOSA F.S., DIASA M., VELHOA F.A., FRENEAUB G.E., BRITOB W.M.E.D., FRANCO A.C., ROEHE P.M.- **Detection of bovine herpesvirus 1 and 5 in semen from Brazilian bulls**. Theriogenology, 75(6):1139-45, 2011.

ROEHE, P.M., SILVA, T.C., NARDI, N.B., OLIVEIRA, L.G. & ROSA, J.C.A. **Diferenciação entre os vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina e herpesvírus da encefalite bovina com anticorpos monoclonais**. Pesq. Vet. Bras., 17:41-44, 1997.

SAMBROOK, J., RUSSELL, D.W. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**, 3rd ed. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 2001.

APOIO FINANCEIRO

