

ATIVIDADE NEUTRALIZANTE ANTI-HERPESVÍRUS BOVINO TIPOS 1 (BHV-1) E 5 (BHV-5) NO SORO DE BOVINOS IMUNIZADOS COM VACINAS CONTRA O BHV-1¹

NEUTRALIZING ACTIVITY TO BOVINE HERPESVIRUS TYPES 1 (BHV-1) AND 5 (BHV-5) IN SERA OF CATTLE IMMUNIZED WITH VACCINES AGAINST BHV-1

Fernanda Silveira Flores Vogel² Eduardo Furtado Flores³
Rudi Weiblen⁴ Cíntia Farias Kunrath⁵

- NOTA -

RESUMO

Bezerros foram imunizados com duas vacinas contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1; vacina A, n=28; B, n=28) ou com uma vacina contendo antígenos do BHV-1 e BHV-5 (n=32) e a atividade neutralizante sérica antiBHV-1 e BHV-5 foi testada após três doses vacinais. Todos os animais (n=88) produziram anticorpos com atividade neutralizante antiBHV-1 (títulos médios geométricos [GMT] de 13,1; 14,8 e 34,3 para as vacinas A, B e C, respectivamente) e 82 animais (93,2%) desenvolveram atividade neutralizante antiBHV-5 (GMTs: 10,6; 11,5 e 29,8, respectivamente). Nos três grupos vacinais, os títulos médios antiBHV-1 não diferiram dos títulos antiBHV-5. No entanto, comparando-se os títulos médios entre as vacinas, os títulos neutralizantes para o BHV-1 e BHV-5 foram superiores nos animais do grupo C ($p < 0,01$). Esse grupo também apresentou a maior proporção de reagentes ao BHV-5 (96,9%; contra 85,7% da vacina A e 92,9% da vacina B). Esses resultados demonstram que a vacina C induziu títulos neutralizantes superiores contra os dois vírus e que anticorpos induzidos por antígenos do BHV-1 (vacinas A e B) possuem atividade neutralizante relevante também contra o BHV-5.

Palavras-chave: herpesvírus bovino tipo 1, BHV-1, BHV-5, vacinas, neutralização cruzada.

SUMMARY

Calves were immunized with two vaccines against bovine herpesvirus type 1 (BHV-1; vaccine A, n=28; B, n=28) or with a vaccine containing BHV-1 and BHV-5 antigens (vaccine C, n=32) and the serum neutralizing activity against BHV-1 and BHV-5 was measured after three vaccine administrations. Neutralizing activity to BHV-1 was detected in sera of 100% (n=88) of the animals (geometric mean titers [GMT] of 13.1; 14.8 and 34.3 for vaccines A, B and C, respectively) whereas 82 sera (93.2%) reacted to BHV-5 (GMTs: 10.6; 11.5 and 29.8). In all three groups, the mean BHV-1 titers did not differ from BHV-5 titers. However, comparison among the vaccines demonstrated that the mean titers to BHV-1 and BHV-5 were higher in animals receiving vaccine C ($p < 0.01$). This vaccine also induced a higher proportion of reagents to BHV-5 (96.9%; against 85.7% for vaccine A and 92.9% for vaccine B). These results demonstrate that vaccine C induced higher neutralizing antibody titers against both viruses; and that antibodies induced by BHV-1 antigens

¹Trabalho realizado com suporte financeiro do CNPq, MCT, CAPES e Finep (PRONEX em Virologia Veterinária, 215-96).

²Médico Veterinário, Aluno de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

³Médico Veterinário, MSc., PhD., Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais e do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFSM. Bolsista do CNPq (520758/96-0). 97105-900, Santa Maria, RS. Fone/fax: 55-220-8034. E mail: flores@ccr.ufsm.br. Autor para correspondência.

⁴Médico Veterinário, MSc., PhD., Professor Titular do DMVP, e do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFSM. Bolsista do CNPq (520161/97-1).

⁵Estudante do Curso de Medicina Veterinária, UFSM.

(vaccines A and B) cross-reacted and displayed relevant neutralizing activity against BHV-5.

Key words: bovine herpesvirus type 1, BHV-1, BHV-5, vaccine, cross-neutralization.

O herpesvírus bovino tipo 5 (BHV-5) é um alfa herpesvírus, previamente classificado como um subtipo do herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1). Surto de meningo-encefalite pelo BHV-5 têm sido descritos com frequência, principalmente no Brasil (WEIBLEN *et al.*, 1989; SALVADOR *et al.*, 1998) e Argentina (ODEON *et al.*, 1998). Em contraste, a infecção respiratória e genital pelo BHV-1 possui distribuição mundial (KAHRS, 1977). O BHV-1 e BHV-5 são muito semelhantes antigenicamente entre si e apresentam uma extensa reatividade sorológica cruzada (BRATANICH *et al.*, 1991; TEIXEIRA *et al.*, 1998). A ampla distribuição da infecção pelo BHV-1, além do uso de vacinação em larga escala, tem sido utilizada para explicar a baixa ocorrência da infecção pelo BHV-5 na Europa e América do Norte (ELY *et al.*, 1996; CASCIO *et al.*, 1999). Reforçando essa hipótese, a infecção pelo BHV-5 tem sido descrita principalmente em países onde a prevalência do BHV-1 é relativamente baixa e que não utilizam vacinação em grande escala. No Brasil, vários estudos indicam a presença dos dois vírus na população bovina (WEIBLEN *et al.*, 1989; ROEHE *et al.*, 1998; TEIXEIRA *et al.*, 1998).

Considerando a similaridade antigênica e a reatividade sorológica cruzada, este trabalho foi realizado para determinar a atividade neutralizante antiBHV-5, conferida por três vacinas contendo antígenos do BHV-1. Para isso, bovinos soronegativos foram divididos em três grupos e imunizados três vezes (5ml, via intramuscular; dias 0, 30 e 180) com vacinas que continham antígenos do BHV-1 (vacina A e B) ou com uma vacina contendo antígenos do BHV-1 e BHV-5 (vacina C). Um grupo (n=10) serviu de controle não-vacinado. O soro coletado no dia 210 foi testado pela técnica de soro-neutralização frente ao BHV-1 e BHV-5 (BRATANICH *et al.*, 1992).

Nos três grupos vacinais, os títulos médios geométricos (GMT) antiBHV-1 não diferiram dos títulos antiBHV-5. Em 53 animais (60,2%), os títulos individuais (BHV-1 *versus* BHV-5) não diferiram entre si (títulos iguais ou diferença de duas vezes). Alguns animais dos três grupos não

apresentaram atividade neutralizante antiBHV-5 (grupo A=4; B=2; C=1)(Tabela 1). Esses animais possuíam títulos baixos (≤ 16) contra o BHV-1. Os títulos neutralizantes médios antiBHV-1 e BHV-5 foram superiores ($p < 0,01$) nos animais imunizados com a vacina C. A vacina C também resultou no maior número de reagentes contra o BHV-5 (31 ou 96,9%; contra 24 ou 85,7% da vacina A e 26 ou 92,9% da vacina B). Dentre os animais imunizados apenas com antígenos do BHV-1 (grupos A e B), seis (10,7%) não apresentaram resposta sorológica antiBHV-5, contra apenas um animal (1/32 ou 3,1%) do grupo C (BHV-1/BHV-5) que não soroconverteu ao BHV-5. A resposta sorológica de maior magnitude contra o BHV-1, e BHV-5, nos animais do grupo C, pode ser atribuída, em grande parte, à utilização de adjuvante oleoso, enquanto a presença de antígenos do BHV-5 provavelmente foi a responsável pela maior proporção de animais reagentes a esse vírus nesse grupo.

Os resultados obtidos corroboram estudos anteriores que demonstraram a extensa reatividade sorológica entre o BHV-1 e BHV-5 (BRATANICH *et al.*, 1991; TEIXEIRA *et al.*, 1998). Além da reatividade sorológica *in vitro*, a possibilidade de proteção cruzada *in vivo* tem sido demonstrada com a vacinação e/ou infecção com o BHV-1 seguida de desafio com o BHV-5 (CASCIO *et al.*, 1999; BELTRÃO *et al.*, 2000). Embora os resultados do presente estudo não permitam inferências sobre proteção cruzada, eles demonstram que os títulos neutralizantes antiBHV-5 induzidos na maioria dos animais imunizados com o BHV-1 (vacinas A e B) foram comparáveis aos títulos tipo-específicos (antiBHV-1). No entanto, experimentos envolvendo vacinação e desafio são necessários para determinar se a resposta neutralizante antiBHV-5, desenvolvida por animais imunizados com o BHV-1, é suficiente para proteger os animais da doença neurológica, além de reduzir a replicação e a disseminação do vírus. Nas condições desse estudo, a inclusão de antígenos do BHV-5, na vacina C, resultou no aumento do número de animais reagentes e com títulos superiores contra o BHV-5. Por isso, não obstante a similaridade antigênica e reatividade sorológica cruzada entre BHV-1 e BHV-5, a inclusão de antígenos do BHV-5 em vacinas a serem utilizadas em regiões onde os dois vírus circulam, parece ser desejável para ampliar o grau e espectro da resposta imunológica contra esse vírus.

Tabela 1 - Anticorpos neutralizantes anti-herpesvírus bovinos tipo 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5) em bezerros imunizados com três vacinas contra o BHV-1.

	Atividade neutralizante ^a									
	AntiBHV-1			AntiBHV-5			Títulos SN antiBHV-1 x BHV-5			
	Positivos	GMT ^b	Varição	Positivos	GMT	Varição	Semelhantes ^c	BHV-1 ^{>d}	BHV-5 ^{>d}	Total
A BHV-1 Vivo modificado	28/28	13,1	2-128	24/28	10,6	<2-64	18	9	1	28
B BHV-1 Inativado Adjuvante Al(OH) ₃	28/28	14,8	2-128	26/28	11,5	<2-64	20	8	-	28
C BHV-1/ BHV-5 Inativados Adjuvante oleoso	32/32	34,3	2->256	31/32	29,8	<2-128	15	12	5	32
TOTAL	88/88	19,4	2->256	82/88	16	<2-128	53	29	6	88

^aAtividade neutralizante no soro (dia 210) contra 100 TCID₅₀ da cepa de BHV-1 (Cooper) ou de BHV-5 (SV-507). Os títulos são expressos como a recíproca da maior diluição do soro capaz de impedir a replicação viral. Os 10 animais controles permaneceram soronegativos ao BHV-1 e BHV-5 durante o experimento (títulos neutralizantes < 2).

^bTítulo médio geométrico [GMT], considerando apenas as amostras positivas. As médias dos títulos foram transformadas em GMT pela relação: $GMT = 2^a$, onde "a" é a média do título de anticorpos em cada vacina frente ao BHV-1 e BHV-5. A análise estatística foi feita baseada no teste de Saphiro-Wilk com nível de significância de 1%.

^cTítulos iguais ou com diferença de uma diluição (2 x) (para o BHV-1 ou BHV-5).

^dDiferenças iguais ou superiores a 2 diluições (4 x).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BRATANICH, A.C., SARDI, S.I., SMITSAART, E.N., *et al.* Comparative studies of BHV-1 variants by *in vivo* – *in vitro* tests. **J Vet Med B**, v.38, p. 41-48, 1991.
- BELTRÃO, N., FLORES, E.F., WEIBLEN, R., *et al.* Infecção e enfermidade neurológica pelo herpesvírus bovino tipo 5 (BHV-5): coelhos como modelo experimental. **Pesq Vet Bras**, v.20, n.4, p.144-150, 2000.
- CASCIO, K.E., BELKNAP E.B., SCHULTHEISS P.C., *et al.* Encephalitis induced by bovine herpesvirus 5 and protection by prior vaccination or infection with bovine herpesvirus 1. **J Vet Diagn Invest**, v.11, p.134-139, 1999.
- KAHRS, R.F. Infectious bovine rhinotracheitis: A review and update. **J Am Vet Med Assoc**, v.171, n.10, p.1055-1064, 1977.
- ELY, R.W., d'OFFAY, J.M., RUEFER, A.H., *et al.* Bovine herpesviral encephalitis: a retrospective study on archived formalin-fixed, paraffin-embedded brain tissue. **J Vet Diagn Invest**, v.8, p.487-492, 1996.
- ODEON, A. Experiencias del grupo de sanidad animal del INTA-Balcarce referente a las infecciones causadas por el virus de la diarrea viral bovina (BVDV) y herpesvirus bovino (BHV). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO & VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA, 1998, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pallotti, 1998. p.59.
- ROEHE, P.M., TEIXEIRA, M.B., ESTEVES, P.A. *et al.* Situação do BHV-1 e BHV-5 no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO & VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA, 1998. Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pallotti, 1998. p.89.
- SALVADOR S.C., LEMOS R.A.A., RIET-CORREA F., *et al.* Meningoencephalitis in cattle caused by bovine herpesvirus-5 in Mato Grosso do Sul and São Paulo. **Pesq Vet Bras**, v.18, p.76-83, 1998.
- TEIXEIRA, M.B., ESTEVES, P.A., COELHO, C.S.S., *et al.* Diferenças em níveis de anticorpos neutralizantes contra herpesvírus bovinos tipos 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5). **Pesq Agrop Gaúcha**, v.4, n.1, p.61-65, 1998.
- WEIBLEN, R., BARROS, C.S.L., CANABARRO, T.F., *et al.* Bovine meningoencephalitis from IBR virus. **Vet Rec**, v.124, p.66-67, 1989.