

DETECÇÃO DO GAMMAHERPESVIRUS EQUÍDEO 2 (EHV-2) EM EQUINOS NA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL

**AMANDA DE OLIVEIRA BARBOSA¹; TAMIRES ELLEN TOMIO²; FRANCIELLE
LIZ MONTEIRO²; ALICE SILVEIRA BECKER²; LEONARDO CLASEN RIBEIRO²;
MARCELO DE LIMA³**

¹Universidade Federal de Pelotas – barbosa.oamanda@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – tamitomio@hotmail.com; franciellemonteiro09@gmail.com;
asilveirabecker@gmail.com; leo_clasen92@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – mdelima.ufpel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O *gammaherpesvirus equídeo 2* (EHV-2) é um vírus envelopado de genoma DNA fita dupla de 184 kbp (HUE et al., 2014). Pertence a família *Herpesviridae*, subfamília *Gammaherpesvirinae* e gênero *Percavirus* (ICTV, 2018). O EHV-2 apresenta distribuição mundial (CRAIG et al., 2005; GILKERSON et al., 2015), porém são escassos os relatos de infecção em território nacional.

A patogênese do EHV-2 não é bem esclarecida (STASIAK, 2018). Contudo, alguns autores relatam a associação com doença do trato respiratório, caracterizada por tosse, secreção nasal, conjuntivite, pneumonia, linfadenopatia, imunossupressão e baixo desempenho (CRAIG et al, 2005; DALL AGNOL et al, 2019). Além disso, recentemente, o EHV-2 foi detectado na mucosa gástrica de equinos, sugerindo a ocorrência de úlceras (PENNINGTON et al., 2017). A infecção pelo EHV-2 não tem predileção por sexo e raça dos animais, porém parece ser mais frequente em potros (HUE et al., 2014; STASIAK et al., 2018).

Como os demais herpesvírus, o EHV-2 tem potencial de estabelecer latência nas células do hospedeiro, permitindo que o vírus seja eliminado de forma intermitente durante toda a vida do animal infectado (GILKERSON et al., 2015). O principal sítio de latência do EHV-2 são os linfócitos B, contudo, o DNA viral já foi detectado em outras células e tecidos como: macrófagos, células de Langerhans, sistema nervoso central e periférico e tecidos linfoïdes (GILKERSON et al., 2015; DALL AGNOL et al., 2019).

A principal forma de transmissão do vírus é horizontal, sendo que o trato respiratório superior é um dos primeiros locais de replicação do EHV-2 durante infecção primária ou reativação, assim, a mucosa nasal pode atuar como reservatório e fonte de excreção viral (HUE et al., 2014). Episódios de reativação podem ocorrer devido a fatores endógenos e exógenos, como estresse ambiental e estimulação farmacológica (AZAB et al., 2019). Além disso, alguns autores sugerem que o EHV-2 possa ter participação na reativação de outros herpesvírus equídeos como o EHV-1 e EHV-4 ou facilitar a infecção por outros patógenos como *Rhodococcus equi* (WANG et al, 2007; DAĞALP et al, 2018).

Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência do EHV-2 em equinos de uma propriedade no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

2. METODOLOGIA

Foram coletadas amostras de sangue e *swab* nasal de 35 equinos de uma propriedade do município de Jaguarão, RS em maio de 2019. As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo EDTA, e os *swabs* foram armazenadas em tubo do tipo *eppendorf*, contendo meio essencial mínimo (MEM)

e antibióticos. O material coletado foi mantido sob refrigeração durante o transporte até o Laboratório de Virologia e Imunologia da Universidade Federal de Pelotas (LabVir/UFPel).

A capa de leucócitos obtida a partir das amostras de sangue, e o *swab* nasal foram utilizados para a extração de DNA com o *kit* comercial *Relia Prep™ Viral TNA* (Promega). Posteriormente, foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) do tipo *nested* para um fragmento do gene da glicoproteína B (gB), utilizando os *primers* EHV-2LI: 5'-GATGGTCTCACCTCTAGCAT-3' e EHV-2RI: 5'-CTGGTGTAACACAGGTCTTC-3' , seguido pelo EHV-2L2: 5'-GGTCTCACCTCTAGCATAAC-3' e EHV-2R2: 5'-GCCACACTCTTCCTTAGT-3'. O fragmento amplificado no primeiro *round* foi de 1111pb e no segundo de 817pb (WANG et al., 2007).

O volume final utilizado para a PCR foi de 25 μ L, contendo 100-200 ng de DNA, 1x *GoTaq® Master Mix Colorless* (Promega) e 0,4 μ M de cada primer. As condições da PCR foram: 94 °C por 5 minutos, 40 ciclos de 94, 54 e 72 °C por 1 minuto, e 72 °C por 7 minutos. Posteriormente, utilizando o corante *Blue Green* (LGC Biotecnologia) foi realizada a eletroforese em um gel de agarose 1,5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O EHV-2 foi detectado em 14,2% (5/35) das amostras de *swab* nasal e 2,8% (1/35) das amostras de sangue, coletadas de equinos com histórico de sinais de doença respiratória leve ou moderada de uma propriedade do município de Jaguarão, RS. Alguns animais apresentavam descarga nasal serosa no momento da coleta.

As amostras de *swab* nasal positivas na PCR para EHV-2 demonstram que os animais possivelmente estavam excretando o vírus no momento da coleta, o que sugere infecção primária ou período de reativação viral com ou sem recrudescência clínica. O trato respiratório superior é um dos primeiros locais de replicação do EHV-2, uma vez que a porta de entrada do vírus é a mucosa nasal (HUE et al., 2014). Em contrapartida, a presença do DNA viral em uma amostra de sangue é sugestivo de infecção latente, uma vez que os linfócitos B correspondem ao principal local de latência do EHV-2 (GILKERSON et al., 2015). Esta hipótese é reforçada pela ausência do DNA viral no *swab* nasal do mesmo animal, indicando ausência de excreção viral no momento da coleta.

Estes achados corroboram com o estudo de Dall Agnol et al. (2019), realizado no Brasil, onde foram obtidas 15,3% (4/26) de amostras positivas para EHV-2 a partir do *swab* nasal de equinos assintomáticos. Entretanto, o percentual de ocorrência do EHV-2 é bastante variável dependendo da região estudada conforme demonstrado por STASIAK et al., 2019 na Polônia (77,2% - 417/540 amostras) e AZAB et al., 2019 no Egito (38% - 73/192 amostras).

4. CONCLUSÕES

A detecção do EHV-2 em amostras de *swab* nasal e sangue de equinos é um indicativo da ocorrência e circulação viral na propriedade estudada. Neste sentido, podemos inferir que a infecção pelo EHV-2 pode estar associada diretamente ou contribuir para a ocorrência dos sinais clínicos respiratórios detectado nos animais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZAB, W. et al. Detection of equid herpesviruses among different Arabian horse populations in Egypt. **Veterinary medicine and science**, v.5, n.3, p 361-371, 2019.

CRAIG M.I., BARRANDEGUY M.E., FERNANDEZ F.M. Equine herpesvirus 2 (EHV-2) infection in thoroughbred horses in Argentina. **BMC Veterinary Research**, v.1, n. 9, p. 1-5, 2005.

DAĞALP, S. B. et al. Determination of presence of equid alpha and gammaherpesvirus infections in foals with respiratory distress. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 65, n. 1, p. 63-68, 2018.

DALL AGNOL, A. M. D. et al. Detection of Equid gammaherpesvirus 2 and 5 DNA in the upper respiratory tract of asymptomatic horses from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 3, p. 875–878, 2019.

GILKERSON J.R., BAILEY K.E., DIAZ-MENDEZ A., HARTLEY C.A. Update on viral diseases of the equine respiratory tract. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, Melbourne, v. 31, n. 1, p. 91–104, 2015.

HUE, E. S. et al. Detection and quantitation of equid gammaherpesviruses (EHV-2, EHV-5) in nasal swabs using an accredited standardised quantitative PCR method. **Journal of Virological Methods**, v. 198, p. 18-25, 2014.

ICTV. **International Committee on Taxonomy of Viruses**. Acesso em 23 de agosto de 2019. Online. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>.

PENNINGTON, M. R. et al. First demonstration of equid gammaherpesviruses within the gastric mucosal epithelium of horses. **Virus Research**, v. 242, p. 30-36, 2017.

STASIAK K., DUNOWSKA M., ROLA J. Prevalence and sequence analysis of equid herpesviruses from the respiratory tract of Polish horses. **Virology Journal**, v. 15, n. 1, p.106-119, 2018.

WANG L. et al. Detection of respiratory herpesviruses in foals and adult horses determined by nested multiplex PCR. **Veterinary Microbiology**, v. 121, p.18–28, 2007.