



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

DOENÇAS NEUROLÓGICAS DE BOVINOS NO NORDESTE DO BRASIL

JUCELI DE SOUZA OLIVEIRA

RECIFE

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

DOENÇAS NEUROLÓGICAS DE BOVINOS NO NORDESTE DO BRASIL

JUCELI DE SOUZA OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal Tropical.

Orientador:
Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça

RECIFE
2015

Ficha catalográfica

S729f Oliveira, Juceli de Souza
 Doenças neurológicas de bovinos no nordeste do Brasil /
Juceli de Souza Oliveira. – Recife, 2015.
 81 f. : il.
 Orientador: Fábio de Souza Mendonça.
 Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2015.
Inclui referências e anexo(s).

1. Meningoencefalite 2. Herpesvírus 3. Bovinos
I. Mendonça, Fábio de Souza, orientador II. Título

CDD 636.089

Dissertação à disposição na Biblioteca Central da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas às normas de ética científica.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

DOENÇAS NEUROLÓGICAS DE BOVINOS NO NORDESTE DO BRASIL

Dissertação de Mestrado elaborada por

JUCELI DE SOUZA OLIVEIRA

Dissertação defendida em 26/02/2014

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça - Presidente

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Cristiano Rocha de Aguiar-Filho

Governo do Estado da Paraíba
Secretaria de Estado do Desenvolvimento da Agropecuária e da Pesca

Profa. Dra. Liriane Baratella-Evêncio

Centro de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Pernambuco

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê”. (Arthur Schopenhauer)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proporcionar esta passagem terrena repleta de saúde, família, amigos oportunidades e conhecimento, dando-me desta forma a capacidade de melhorar um pouquinho a cada dia, em todos os sentidos.

Aos meus pais, Antônio e Iraci, pelo incentivo, pelo amor, pela saudade e enfim por todos os sentimentos e atos que me permitiram estar aqui hoje.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), instituição onde me graduei em Ciências Biológicas, e a todos os professores que realmente se empenharam em vencer as dificuldades, contribuindo com minha formação pessoal e profissional.

Ao meu orientador, professor Fábio de Souza Mendonça, que sempre esteve presente em todos os sentidos e dividiu desde o início as obrigações da minha orientação e da condução deste trabalho.

Meus agradecimentos a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

À médica veterinária, Francilene, que também foi peça fundamental para que alcançássemos nossa metas! Espero que você tenha conhecimento do quanto foi importante e que serei sempre grata por ter se dedicado ao máximo a esta “causa” e ter compartilhado e observado minhas angustias e dificuldades nesta fase final, e que agora pode concluir que nada mais foi do que mais um obstáculo vencido, um grande aprendizado para todos nós.

A equipe do Laboratório de Diagnóstico Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LDA-UFRPE), que me forneceram informações precisas para a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório Central de Saúde Pública-LACEN: Alcides e Rogério, por estarem sempre prontos a ajudar.

Aos alunos da turma do Mestrado, pela paciência e companheirismo, por lerem meus textos, corrigirem, por me aconselharem e por ter confiado em mim.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA.....	14
REVISÃO DE LITERATURA.....	15
Respostas teciduais do sistema nervoso central às infecções	17
Doenças neurológicas de bovinos no nordeste do Brasil.....	20
Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5	21
Raiva	24
Febre catarral maligna	27
Outras doenças neurológicas importantes	30
OBJETIVOS	35
Objetivo Geral	35
Objetivos Específicos	35
ARTIGO CIENTÍFICO	36
DISCUSSÃO	47
CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXOS	66

RESUMO

Em bovinos, as doenças do sistema nervoso central (SNC) provocam sérios prejuízos econômicos, tendo em vista a elevada mortalidade de animais que provocam. Considerando que o Brasil situa-se entre os maiores exportadores de carne bovina, torna-se necessário o fortalecimento do sistema de vigilância epidemiológica das doenças do SCN, realizando o diagnóstico diferencial das encefalites e encefalopatias a fim de fornecer informações epidemiológicas para os órgãos de defesa agropecuária e ao Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros e Outras Encefalopatias (PNCRH). Dentre os agentes a serem incluídos, destaca-se os herpesvírus bovino 5 (BoHV-5), agente causador da meningoencefalite herpética bovina. O objetivo dessa dissertação é revisar as principais doenças neurológicas de bovinos no nordeste do Brasil e relatar a ocorrência em duas propriedades rurais no Estado de Pernambuco, de casos de meningoencefalite necrosante associada BoHV-5, que resultou na morte de 5 bovinos entre os anos de 2011-2012. Os sinais clínicos observados consistiram em andar em círculos, cegueira, pressão da cabeça contra objetos, tremores musculares, incoordenação, depressão acentuada e decúbito lateral permanente seguido de morte. À necropsia não foram observadas alterações significativas. Ao corte do encéfalo, após a fixação em formol, foram observadas áreas de aspecto granular ao corte, com coloração acinzentada, amolecidas e cavitações no córtex cerebral, mesencéfalo, hipocampo, tálamo, núcleos da base e cerebelo. Microscopicamente havia meningite não supurativa e encefalite difusa com a presença de manguitos perivasculares, de células mononucleares indiferenciadas e necrose neuronal. Nas áreas de polioencefalomalacia havia neuronofagia e a presença de células Gitter. Nas amostras submetidas à PCR houve amplificação do DNA de BoHV-5.

Palavras-chave: bovinos, doenças do sistema nervoso central, herpesvírus, malacia, PCR.

ABSTRACT

In cattle, diseases of the central nervous system (CNS) cause serious economic losses, owing to the high mortality of animals that these diseases cause. Considering that Brazil is the largest beef exporters, it is necessary to strengthen the epidemiological surveillance of SCN diseases, performing the differential diagnosis of encephalitis and encephalopathy to provide epidemiological information to agriculture defense agencies and the National Rabies Control Program and Other Brain Diseases (PNCRH). Bovine herpesvirus 5 (BoHV-5), the causative agent of bovine herpetic meningoencephalitis is one of the most important agents to be included. The objective of this work is to review the main neurological diseases of cattle in northeastern Brazil and report the occurrence of cases of necrotizing meningoencephalitis associated BoHV-5, between the years 2011-2012, in the state of Pernambuco. The clinical signs consisted of circling, blindness, nasal and ocular discharge, head pressing, muscle tremors, incoordination, and permanent lateral recumbence followed by death. At necropsy no significant changes were observed. After cutting the brain previously fixed in formaldehyde solution, softened grayish areas of granular appearance and cavitations in the cerebral cortex, midbrain, hippocampus, thalamus, basal ganglia and cerebellum were observed. Microscopically there was nonsuppurative meningitis and diffuse encephalitis with perivascular cuffs, mononuclear or undifferentiated cells and neuronal necrosis. In areas of polioencefalomalacia there was neuronophagia and the presence of Gitter cells. In the samples submitted to PCR there was amplification of DNA from BoHV-5.

Keywords: bovine, diseases of central nervous system, bovine herpesvirus, malacia, PCR.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Bezerro de sete meses de idade com meningoencefalite necrosante associada ao herpesvírus bovino-5.....41
- Figura 2.** Áreas de aspecto granular, com coloração acinzentada, amolecida e presença de cavitações no encéfalo de bovino fixado em formol a 10%.....41
- Figura 3.** Tálamo apresentando manguito perivascular, aumento do *status spongiosus* e neurônios vermelhos (H&E 40x). [Barra:10µm].....41
- Figura 4.** Meningite linfocitária e malacia severa do córtex telencefálico com infiltrado de células mononucleares (H&E 40x). [Barra:20µm]41

LISTA DE ABREVIATURAS

AlHV-1 - Alcelaphine Herpesvírus 1

BoHV-5 – Herpesvírus bovinos -5

BVD-MD - Diarréia viral bovina-doença das mucosas

CpHV-2 - Herpesvírus caprino-2

EEB - Encefalopatia espongiforme bovina

FCM - Febre Catarral Maligna

FCM-OA – Febre catarral maligna forma ovino-associada

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia Estatística

IFD - Imunofluorescência direta

LCR - Líquido Cefalo Raquidiano

OIE - Organização Mundial de Saúde Animal

OvHV-2 - Herpesvírus ovino-2

PCR - Reação em cadeia de polimerase

PEM - Polioencefalomalacia

PNCRH - Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros

SNC - Sistema Nervoso Central

VDVB - Vírus da Diarreia Viral Bovina

QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA

Em bovinos, as doenças do sistema nervoso central (SNC) provocam sérios prejuízos econômicos no Brasil, tendo em vista a elevada mortalidade de animais que provocam (GARMATZ et al., 2004; KARAM et al., 2004; LIMA et al., 2005; GALIZA et al., 2010).

Diferentes grupos de agentes são responsáveis por tais manifestações como vírus, príons, bactérias, protozoários, distúrbios metabólicos, agentes tóxicos, entre outros. Doenças como a encefalopatia espongiforme bovina (EEB) causaram e vêm causando prejuízos incalculáveis à agropecuária no continente europeu, assim como em outras partes do mundo (BARBOSA et al., 2005). Assim como, o príon agente causador da EEB, alguns dos agentes são zoonoses, por isso impactam diretamente a saúde pública tais como o vírus da raiva e a *Listeria monocytogenes*. Outros infectam apenas animais como os vírus da família Herpesviridae, a leucose enzoótica bovina e vírus da diarreia viral bovina (BVDV) (CLAUS et al., 2002, BARROS et al., 2006). Esta diversidade de agentes implica em esforços por parte do sistema de defesa sanitária animal para realizar o diagnóstico diferencial e confirmação do agente para aplicar as medidas específicas de controle (CLAUS et al., 2002, BARROS et al., 2006).

Entretanto, principalmente nas regiões norte e nordeste do Brasil, ainda é elevada a quantidade de ruminantes que morrem sem que haja um correto diagnóstico etiológico das enfermidades. Essa dissertação, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, é composta por uma revisão de literatura relacionada às principais doenças neurológicas diagnósticas em bovinos no nordeste do Brasil e por um artigo original, publicado na revista *Acta Scientiae Veterinariae*, onde são descritos surtos de meningoencefalite necrosante associada ao herpesvírus bovino-tipo 5 em Pernambuco.

REVISÃO DE LITERATURA

O aumento dos preços mundiais dos alimentos tem sido uma das grandes preocupações de especialistas desde o ano de 2010. Dentre os vários fatores para este aumento, tem-se a pressão exercida pelo crescimento populacional, a utilização de áreas agricultáveis para a plantação de culturas com a finalidade de produção de biocombustíveis, adversidades climáticas como as secas ocorridas na China e na Rússia, as oscilações dos preços do petróleo, a crise norte-americana e a desvalorização do dólar, entre outras causas (IBGE, 2010).

Porém, a produção agrícola brasileira registrou nos últimos vinte anos um crescimento significativo para grande parte dos seus produtos. Em 2012, a safra nacional de cereais, leguminosas e oleaginosas foi estimada 157,5 milhões de toneladas. As três principais culturas, que somadas representam 90,7% da produção de cereais, leguminosas e oleaginosas, o arroz, o milho e a soja, responderam por 83,1% da área a ser colhida. Em compensação, vale ressaltar que os alimentos produzidos para o mercado interno tiveram crescimento inferior, como o tomate (91%), a cebola (74%), o trigo (63%), o feijão em grão (56%), a batata-inglesa (54%), a aveia (42%) e a mandioca, sem crescimento (IBGE, 2012).

Houve, também, a evolução do efetivo dos rebanhos, conforme informado pelos Censos Agropecuários, de 1970 a 2006. Vale registrar que, neste período, o efetivo de bovinos cresceu 218%, enquanto o de suínos permaneceu inalterado e o efetivo de ovinos decresceu em quase 20%, em número de cabeças. O crescimento do plantel de bovinos deu-se por conta da acentuada expansão da participação da região Norte, que, em 1997, tinha o menor abate e, em 2009, já se colocava muito próxima da região Sudeste, que ocupa a segunda posição, depois da região Centro-Oeste (CAISAN, 2011).

Em 2010, a agropecuária brasileira participou com 5,8% no produto interno bruto - PIB do País. Movimentou um valor de R\$ 180,831 bilhões, representando um crescimento de 6,5% sobre o volume registrado em 2009, segundo as contas nacionais trimestrais, sob a ótica da despesa, também do IBGE. A participação da atividade, embora proporcionalmente menor do que a indústria (26,8%) e os serviços (67,4%), resguarda importância em termos de geração de emprego, renda e ocupação do território nacional (IBGE, 2012).

O efetivo de bovinos em 2010 teve aumento de 2,1% em relação a 2009, e foi de 209,541 milhões de cabeças. Aumentos foram registrados nas Regiões Norte (4,1%), Centro-Oeste

(2,7%), Nordeste (1,7%) e Sudeste (0,6%). No Sul do País, o rebanho ficou estável (-0,1%). Em 2010.

Segundo a distribuição regional do efetivo de bovinos em 2010, 34,6% dos bovinos encontravam-se no Centro-Oeste, 20,1% no Norte, e 18,3% no Sudeste do País. Os maiores efetivos de bovinos do Brasil encontram-se no Estado de Mato Grosso, seguido pelos Estados de Minas Gerais e Mato Grosso do Sul. Roraima foi a Unidade da Federação que apresentou o maior aumento percentual do rebanho bovino em relação a 2009 (IBGE, 2012).

No caso particular da região Nordeste, de maneira geral observou-se um ligeiro aumento do efetivo bovino, tendo aumentado de 24,0 para 28,7 milhões de cabeças no período de 1994 a 2010. Os Estados que apresentam grande percentual do território no semi-árido mantiveram seus rebanhos estáveis. Porém, nos Estados do Maranhão e da Bahia, dois Estados com grandes áreas territoriais fora da região semi-árida, nota-se que houve crescimento em mais de 1,5 milhão de cabeças. O Maranhão que tem expandido a pecuária de corte em sua faixa amazônica e a Bahia na faixa litorânea. No caso da Bahia, houve um incremento significativo da bovinocultura leiteira em áreas ocupadas anteriormente pela cultura do cacau. Em 2010, esses dois estados concentravam cerca de 55% do efetivo total de bovinos no nordeste do Brasil. (IBGE, 2012).

Considerando que o Brasil situa-se entre os maiores exportadores de carne bovina, torna-se necessário o fortalecimento do sistema de vigilância epidemiológica das doenças do SNC, realizando o diagnóstico diferencial das encefalites e encefalopatias a fim de fornecer informações epidemiológicas para o Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros e Outras Encefalopatias (PNCRH). No Brasil foram identificados diversos agentes causadores de encefalites, sendo a raiva considerada uma das principais (SANCHES et al., 2000). Dentre os agentes a serem incluídos, destaca-se os herpesvírus bovino 5 (BoHV-5), agente causador da meningoencefalite herpética bovina, doença ainda pouco diagnosticada no nordeste do Brasil.

Estudos realizados no semiárido nordestino onde se determinou a ocorrência das doenças ocorridas no sistema nervoso indicam que o BoHV-5 foi responsável por 2,7% (3/111) dos casos (GALIZA et al., 2010). O número de casos de meningoencefalite herpética pode ser bem maior do que esse estimado na Paraíba, tendo em vista a escassez de estudos. Tem-se o exemplo do trabalho de Fonseca et al., (2011) que detectaram o BoHV-5 em cerca de 15% (10/65) de amostras de encéfalo provenientes de várias regiões do estado de Minas Gerais. Em um estudo realizado em bovinos da região Sul do Brasil, em 305 casos de encefalite; encontraram 49,51%

positivos para raiva e 4,59% positivos para meningoencefalite herpética (SANCHES et al., 2000).

Respostas teciduais do sistema nervoso central às infecções

A etiologia de inflamação apresenta múltiplos fatores que podem ser incriminados como agentes causais, subdivididos em agentes físicos (traumatismo, irradiação, calor, frio e outros), químicos (ácidos, sais, bases e tóxicos diversos) e biológicos (bactérias, vírus, fungos, protozoários e parasitas). Todos estes agentes atuam de forma e intensidade variadas, desencadeando respostas diferenciadas. Todas às vezes que estiverem atuando os agentes biológicos, a resposta inflamatória passa a ser denominada infecção (COELHO, 2002).

Agentes infecciosos podem estender-se até o SNC (1) por via hematógena; (2) pelo axoplasma de axônios periféricos; (3) pela mucosa olfativa (que contém células receptoras cujos processos formam sinapses no SNC, como também por disseminação direta da submucosa nasal para o LCR, através do espaço subaracnóideo focalmente exposto); (4) por disseminação direta (MCGAVIN & CARLTON, 1995).

O transporte axonal retrógrado fornece uma porta única de entrada para vírus, como o da raiva e a bactéria *Listeria monocytogenes*. Estes patógenos replicam nos tecidos ricamente innervados com receptores e placas das terminações motoras dos neurônios sensoriais e motores, respectivamente, que fornecem uma conexão entre infecção periférica e o SNC (ZACHARY & MCGAVIN, 2009).

Microtúbulos e proteínas são responsáveis pelos fluxos axônicos. As proteínas motoras prendem vesículas, organelas ou moléculas e transitam sobre os microtúbulos. Uma dessas proteínas é a dineína, que toma parte do fluxo retrógrado, e a outra é a cinesina, que participa do fluxo anteretrógrado. Ambas são ATPases (rompem uma ligação do ATP, liberando energia). O fluxo retrógrado pode levar moléculas e partículas estranhas e prejudiciais para o corpo celular situado no SNC. É, por essa via, por exemplo, que o vírus da raiva, depois de penetrar os nervos, é transportado para o corpo das células nervosas, provocando encefalite muito grave (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Quando os neurônios são infectados na medula espinhal, ocorre uma posterior disseminação neurônio a neurônio dentro dos axônios no SNC por meio do transporte axonal rápido em conexões neuroanatômicas. Muitos tipos de células neuronais são infectados em

ampla disseminação no SNC; a infecção de células não neuronais ocorre em uma frequência bem menor (JACKSON, 2010).

No SNC, os agentes infecciosos podem disseminar-se no interstício, dentro de neurônios e neuróglio, através de linfócitos móveis infectados que penetram na circulação até o LCR (MCGAVIN & CARLTON, 1995).

Em condições normais, a barreira hematoencefálica previne a entrada de células imunocompetentes, citocinas e anticorpos no sistema nervoso central (SNC). Dessa forma, a função imune do SNC é um fator condicional, sendo mínima em um organismo sadio. Apenas uma reduzida proporção de linfócitos T atravessa essa barreira, migrando para o parênquima do SNC. Assim, no SNC intacto, a expressão de MHC I é variável, sendo normalmente bastante baixa. Todavia, genes de MHC I são induzíveis em células gliais e neurônios durante infecções virais, inflamação, tumores e exposição a citocinas, como o interferon- β e δ (OLIVEIRA et al., 2010).

A micróglia é frequentemente a primeira célula no SNC a reagir a uma lesão e a magnitude da resposta é graduada e correlacionada com a severidade do dano. Como mencionado, de comum acordo com os astrócitos e neurônios, a microglia ajuda a coordenar os eventos inflamatórios no SNC. A microglia residente e os macrófagos derivados do sangue expressam antígenos do MHC de classe I e II, servem como células apresentadoras de antígenos e possuem um amplo armazenamento de moléculas de adesão citocinas e quimiocinas. Uma vez ativadas, essas células também produzem óxido nítrico, intermediários reativos de oxigênio e outros mediadores químicos da inflamação que podem danificar o SNC se não estiverem sob estrito controle (ZACHARY & MCGAVIN, 2009).

O tipo de resposta inflamatória pode variar com a causa. Um guia bastante simplístico (para o qual sempre pode haver exceções) que compara o tipo de inflamação com diferentes agentes etiológicos é o seguinte: reações supurativas (ou purulentas) – várias espécies de bactérias; reações não-purulentas (linfocitária, monocítica [macrofágica], plasmacítica) – vírus e alguns outros agentes etiológicos (por exemplo, protozoários como *Toxoplasma gondii* e infestações parasitárias) e reações granulomatosas – fungos e certas bactérias (por exemplo, *Mycobacterium spp.*) (MCGAVIN & CARLTON, 1995).

Quatro alterações de ocorrência comum associada à inflamação do SNC, induzida por diferentes causas, são leptomeningite, manguitos perivasculares, microgliose e degeneração neuronal (MCGAVIN & CARLTON, 1995).

As alterações regressivas compreendem vários distúrbios, nos quais a célula perde parte de sua estrutura ou seu desenvolvimento é interrompido, podendo comprometer com intensidade variada, sua função. Entre as alterações regressivas incluem-se as alterações do desenvolvimento – anomalias congênitas do crescimento (agenesia, aplasia, hipoplasia) e as alterações adquiridas – vários tipos de distúrbios do metabolismo celular (hipotrofia, degeneração, infiltração) (COELHO, 2002).

Hoje, o termo degeneração se restringe a alterações morfológicas das células, não incluindo as modificações no interstício. Ao lado disso, as degenerações são sempre processos reversíveis, ou seja, lesões compatíveis com a volta da célula à normalidade após eliminada sua causa. Por esta razão, o termo degeneração será aqui utilizado para indicar lesões reversíveis decorrentes de alterações bioquímicas que resultam em acúmulo de substâncias no interior das células (BRASILEIRO FILHO, 1998).

Tomando-se por base a composição química das células (água, eletrólitos, lipídeos, carboidratos e proteínas), as degenerações são agrupadas de acordo com a natureza da substância acumulada na célula. Por este critério, as degenerações são classificadas em (1) degenerações com acúmulo de água e eletrólitos, o exemplo clássico é o da degeneração hidrópica; (2) degenerações com acúmulo de proteínas; (3) degenerações com acúmulo de lipídeos; (4) degeneração com acúmulo de carboidratos (BRASILEIRO FILHO, 1998).

Produzir lesões reversíveis ou não depende da natureza do agente agressor e da intensidade e duração da agressão. Morte celular é um processo e, como tal, uma sucessão de eventos, sendo às vezes muito difícil estabelecer qual o fator que determina a irreversibilidade da lesão. Se a morte celular ocorre no organismo vivo e é seguida de autólise, o processo recebe o nome de necrose (BRASILEIRO FILHO, 1998).

Conforme o padrão macroscópico, pode ser classificada em necrose de coagulação, caseificação e liquefação. Necrose de liquefação é um tipo especial de necrose, caracterizada pela desintegração e fluidificação enzimática rápida das células, transformando-as em uma substância líquida. É observada principalmente nas afecções do sistema nervoso central, nos processos supurados de um modo geral e especialmente nos abscessos. O cérebro responde a injúrias tóxicas e hipotóxicas intensas com liberação de enzimas proteolíticas rapidamente, formando focos de fluidificação tecidual, denominados de malácia. Quase sempre estes focos evoluem para necrose de liquefação (COELHO, 2002).

A necrose é um processo que geralmente afeta grupos de células em contraste com simples células isoladas, como observado na apoptose. A necrose é caracterizada pela seguinte sequência: degeneração hidrópica, tumefação da mitocôndria, picnose e fragmentação do núcleo e lise celular eventual causada por dano na membrana plasmática e a incapacidade da membrana plasmática em controlar os gradientes de íons e fluidos. Os restos celulares associados à morte neuronal necrótica irão elicitar uma resposta inflamatória em contraste com a morte neuronal apoptótica (ZACHARY & MCGAVIN, 2009).

Os neurônios isquêmicos morrem e são removidos ou por um processo chamado de neurofagia, que é a fagocitose pelas células da micróglia e macrófagos, ou por lise. Após a necrose neuronal, ocorre a tumefação dos processos astrocíticos perineuronal e perivascular (ZACHARY & MCGAVIN, 2009).

Quando ocorre a necrose do tecido, os macrófagos derivados dos monócitos sanguíneos fagocitam os restos carregados de lipídeos dos neurônios mortos e da glia, se tornam macrófagos espumosos denominados de “células de Gitter” e se acumulam no SNC danificado (ZACHARY & MCGAVIN, 2009).

Doenças neurológicas de bovinos no nordeste do Brasil

As doenças neurológicas em bovinos assumiram maior importância após a ocorrência de casos de encefalopatia espongiforme (EEB), na Inglaterra (WELLS et al., 1987) e de sua relação com o aparecimento de uma nova variante da doença humana Creutzfeldt-Jakob (WILL et al., 1996; ALMOND & PATTISON, 1997). O Brasil notificou o primeiro caso de EEB no Estado do Paraná, em dezembro de 2012. Em março 2014, outro bovino apresentou a doença em Porto Esperidião, Mato Grosso. Esses foram considerados casos atípicos da doença e dada as ações de vigilância epidemiológicas adotadas, o Brasil continuou sendo considerado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) como país de risco insignificante para EEB.

Segundo Barros et al., (2005), no Brasil as doenças que afetam o SNC de bovinos são bastante similares, embora possam ocorrer variações na quantidade de casos em cada região do país. No nordeste do Brasil, no grupo das doenças causadas por vírus, são descritas quatro enfermidades: raiva, meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 (BoHV-5) e febre catarral maligna (GALIZA et al., 2007, MACÊDO et al., 2007, HEADLLEY et al., 2012, MAPA, 2013). No Sul, Sudeste e Centro-Oeste brasileiro são também registrados casos de doença de Aujeszky.

Todas essas doenças devem ser sempre consideradas no diagnóstico diferencial de casos de bovinos que apresentem história de distúrbios nervosos (SANCHES et al., 2000; LEMOS, 1998; RIET-CORREA et al., 1998; BARROS et al., 2006; LEMOS, 2005).

Serão abordadas nesta revisão as principais doenças neurológicas que afetam bovinos no nordeste do Brasil, dentre elas as de maior prevalência e importância para o diagnóstico diferencial da meningoencefalite por BoHV-5.

Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5

O herpesvírus pertence à família *Herpesviridae* e subfamília *Alphaherpesvirinae*, está relacionado a diversas patologias em diferentes espécies animais e tem a capacidade de se replicar em diferentes tecidos como o nervoso, linfóide e em órgão parenquimatosos (STRAUB, 1982, ROIZMAN et al., 1992). Por muito tempo acreditou-se que o herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) era um subtipo do herpesvírus bovino tipo I (BoHV-1), agente etiológico da rinotraqueíte infecciosa bovina e vulvovaginite/balanopostite pustular infecciosa (GIBBS; RWEYEMANN, 1977); considerado como uma “variante encefalitogênica”, devido às reações cruzadas entre os dois vírus, observadas em testes sorológicos, o que se deve às semelhanças entre suas propriedades, biológicas, estruturais, moleculares e antigênicas (ROIZMAN et al., 1992, DELHON et al., 2003).

Na década de 90, o BoHV-5 e o BoHV-1 foram reconhecidos como agentes patogênicos distintos, sendo suas principais diferenças a capacidade de invadir e replicar-se no sistema nervoso central (SNC) e promover o desenvolvimento de neuropatias, característica esta presente apenas no BoHV-5, agente etiológico da meningoencefalite bovina (STUDDERT, 1989, BELKNAP et al., 1994).

A meningoencefalite bovina afeta com maior frequência bovinos jovens, com idade variando de 6-7 meses até 3 anos, porém existem relatos de surtos em animais até 3 meses e com mais de 5 anos (COLODEL et al., 2002, ELIAS et al., 2004). É uma doença diagnosticada em várias regiões do país (ELIAS et al., 2004), já sendo descritos casos clínicos nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul, Goiás e Pará (RIET-CORREA et al., 1989, ROEHE et al., 1997, SALVADOR et al., 1998, CLAUS et al., 2000, COLODEL et al., 2002, GOMES et al., 2002, SOUZA et al., 2002, DE PAULA et al., 2005, RIET-CORREA et al., 2006). Na região Nordeste foram relatados

casos esporádicos da infecção no Estado da Paraíba, mas sem isolamento do DNA viral (GALIZA et al., 2010) e no Estado de Pernambuco (OLIVEIRA et al., 2014).

Apesar da ampla distribuição da doença no rebanho bovino brasileiro não é possível mensurar a prevalência da infecção, devido a dificuldade de diferenciação sorológica do BoHV-5 e outras amostras de herpesvírus, especialmente o BOHV-1 (ROEHE et al., 1998).

Inicialmente a infecção por BoHV-5 com o desenvolvimento de sinais clínicos só havia sido descrita em bovinos, mas já foi reproduzida em ovinos (SILVA et al., 1998) e coelhos (BELTRÃO et al., 2000). Ocorre geralmente de forma esporádica, chegando a uma taxa de morbidade de 0,05 a 30% e de letalidade consideravelmente alta, de 75 a 100% (RIET-CORREA et al., 1989).

A evolução do quadro clínico em bovinos infectados geralmente varia entre 1 e 15 dias, tendo como período de incubação o intervalo de 1 a 10 dias (BELKNAP et al., 1994). Na maioria das vezes a doença é fatal, mas são relatados alguns casos em que ocorre a recuperação do animal após a infecção (RISSI et al., 2006). Alguns autores citam condições que podem reativar o vírus do estado latente e também a capacidade de disseminação para outros indivíduos, como os fatores que causam estresse aos animais, como vacinação, desmame, troca de alimentação ou mesmo aplicação de dexametasona (ELIAS et al., 2004).

O quadro neurológico inclui diversos sinais clínicos, como corrimento nasal e ocular seroso, que pode evoluir para mucoso e mucopurulento. O animal pode apresentar desidratação, apatia, anorexia, isolamento do rebanho, andar em círculos, tremores de cabeça e pescoço, cegueira, incoordenação, depressão acentuada, catatonia, decúbito esternal seguido de decúbito lateral permanente e morte (COLODEL et al. 2002, ELIAS et al. 2004, DE PAULA et al. 2005, RIET-CORREA et al. 2006, RISSI et al. 2006, OLIVEIRA et al., 2014).

Os achados de necropsia podem não demonstrar alterações significativas no encéfalo (RISSI et al., 2006, OLIVEIRA et al., 2014), ou em alguns casos é possível observar vários graus de lesões inflamatórias e degenerativas no referido tecido (ELIAS et al., 2004, DE PAULA et al., 2005, RIET-CORREA et al., 2006, RISSI et al., 2006). Oliveira et al. (2014) observaram após fixação em formol de fragmentos do encéfalo, áreas de aspecto granular, com coloração acinzentada, amolecidas e cavitações no córtex telencefálico, mesencéfalo, colículo rostral, pedúnculos cerebrais (substantia nigra e crus cerebri), hipocampo, tálamo e núcleo geniculado

medial. Também é relatada a presença de muco e hiperemia nas fossas nasais e a ativação dos linfonodos retrofaríngeos e mediastínicos (DIAS et al., 1982, CARRILLO et al., 1983).

Microscopicamente, observa-se meningoencefalite necrosante não supurativa difusa e de intensidade variável de acordo com cada caso (RISSI et al. 2006, OLIVEIRA et al., 2014). Nos casos descritos em Pernambuco foi observada também necrose cortical cerebral laminar, com acúmulo de células mononucleares indiferenciadas, plasmócitos e células Gitter, principalmente nos espaços perivasculares e submeningeano. Manguitos perivasculares linfoplasmocitários, acúmulo discreto de neutrófilos, necrose neuronal, neuronofagia e células Gitter foram observadas em outras áreas de malacia nos núcleos da base, tálamo, mesencéfalo e pedúnculos cerebelares. No cerebelo, ponte, medula oblonga e medula cervical não foram observadas lesões (OLIVEIRA et al., 2014).

Na maioria das vezes o diagnóstico de meningoencefalite causada por BoHV-5 é dado de forma presuntiva, levando-se em consideração achados epidemiológicos, clínicos, de necropsia e histopatológicos (SALVADOR et al., 1998, COLODEL et al., 2002, ELIAS et al., 2004, RISSI et al., 2006, RIET-CORREA et al., 2006). Sendo importante para confirmação dos casos a realização de testes para identificação do vírus por meio da detecção de antígenos virais em secções do encéfalo (OLDONI et al., 2004). Também podem ser empregadas técnicas de imunohistoquímica ou Reação em cadeia da Polimerase (PCR) (AFONSO et al., 2007).

Não existe tratamento específico, nem são descritas medidas de controle e profilaxia para a doença (RISSI et al., 2006). Alguns autores (VOGEL et al., 2002, DEL MÉDICO et al., 2006) descrevem, devido a semelhança antigênica entre o BoHV-5 e o BoHV-1, a existência de uma reatividade sorológica e proteção cruzada, onde anticorpos produzidos contra BoHV-1, promovem a neutralização do BoHV-5.

Apesar da prevalência aparentemente baixa da enfermidade na Região Nordeste do Brasil (OLIVEIRA, et al., 2014), o conhecimento das características epidemiológicas e clínico-patológicas dos casos de meningoencefalite associada ao BoHV-5 é de grande importância, devido às suas semelhanças com outras enfermidades que comprometem o sistema nervoso central de bovinos, em especial a raiva (CLAUS, 2005).

Raiva

A raiva é uma encefalomielite viral causada por um Lyssavirus frequente em bovinos em todo o Brasil e praticamente em todo mundo (Radostits et al., 2002, Rodriguez et al., 2007, Pedroso et al., 2009). Na América do Sul, o principal transmissor é o morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Martinez-Burnes et al., 1997, Rodriguez et al., 2007) que transmite a doença pela mordida, cuja saliva contém o vírus (Summers et al., 1995). A partir de 2004, os animais silvestres assumiram o papel de principais transmissores da raiva a humanos. No período de 2000 a 2009, foi registrada uma média de 16 casos de raiva humana ao ano no Brasil. Cerca de 69,0% (112/163) dos casos humanos ocorreram em zonas rurais e em 97,0% (72/74) dos casos o morcego foi o principal transmissor da doença (WADA et al., 2011).

No período de 1996 a 2005, foi registrado um decréscimo de 65% dos casos de raiva bovina e aumento de aproximadamente 44,5% de casos de raiva silvestre, a maioria em morcegos hematófagos e não hematófagos (PATRÍCIO et al., 2009). Este fato demonstra a presença marcante e crescente do vírus nesta população e a importância de considerarmos a transmissão interespecie, uma vez que morcegos são os principais disseminadores da doença em áreas rurais (Patrício et al., 2009).

Conforme dados oficiais do Ministério da Agricultura e estimativas de subnotificações, as perdas anuais de bovinos por raiva são estimadas em aproximadamente 850.000 cabeças, que equivalem a aproximadamente 17 milhões de dólares (Lima et al., 2005). Surtos de raiva bovina são descritos no Brasil desde 1911 (Carini 1911) e além dos bovinos, os equinos são a espécie mais comumente afetada (Peixoto et al., 2000). Entre os anos de 2006 a 2012, foram registrados aproximadamente cerca de 1.000 focos de raiva bovina em todo o nordeste. Dos cerca de 2.297 exames realizados, 1040 (45,2%) foram positivos para raiva (MAPA, 2013). Esses dados confirmam que a raiva é a principal doença neurológica que afeta bovinos no nordeste do país. Porém, um outro dado é levantado: em 54,8% dos casos neurológicos, outras doenças são causa de morte de bovinos. Portanto, a realização de estudos sistematizados que tem por objetivo o esclarecimento da etiologia das enfermidades neurológicas de bovinos, é de extrema importância para a vigilância epidemiológica, para controle e/ou erradicação dessas doenças.

A raiva pode cursar de duas formas: uma associada ao ciclo urbano, isolada de cães, gatos e humanos onde se observa um quadro clínico que consiste numa forma furiosa; outra

associada ao ciclo silvestre da doença, isolada de bovinos e morcegos onde se observa uma forma parálitica da doença (ITO et al., 2001; HEINEMANN et al., 2002; KOBAYASHI et al., 2006). Essa diferença clínica ocorre porque nessas espécies, regiões distintas do SNC são afetadas. Na raiva furiosa encontram-se lesões mais frequentemente no córtex cerebral, hipocampo e tálamo (SUREAU et al., 1991). Na raiva parálitica, as lesões mais comuns ocorrem na medula espinhal, tronco encefálico, tálamo e cerebelo (BATISTA et al., 2007, FERNANDES & RIET CORREA, 2007; PEDROSO et al., 2009).

Os trabalhos mais recentes sobre a raiva bovina no nordeste do Brasil foram desenvolvidos na Paraíba, na Bahia e no Piauí (REIS et al., 2003; LIMA et al., 2005; GALIZA et al., 2010; SILVA et al., 2010; BRAGA et al., 2013). Na Bahia foram avaliados os aspectos clínicos e epidemiológicos de bovinos com diagnóstico clínico e laboratorial positivos para raiva. Foram analisados os prontuários clínicos de 84 animais que apresentaram resultados laboratoriais positivos para a raiva (REIS et al., 2003). Em estudos sobre doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino entre os anos de 2000 a 2008, foram examinadas 411 fichas de bovinos necropsiados. Em 139 (33,81%) havia histórico de alterações clínicas no SN e em 111 foi realizado o diagnóstico. Sessenta e quatro casos foram associados a doenças atribuídas a vírus, sendo 54 de raiva (LIMA et al., 2005; GALIZA et al., 2010; SILVA et al., 2010). No Piauí descreveu-se um surto na bacia leiteira de Parnaíba onde morreram 127 bovinos (BRAGA et al., 2013). Nesses trabalhos são descritos os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos da doença, principalmente em bovinos. De uma maneira geral, verifica-se que a doença se comporta de forma similar à que ocorre em outras regiões do Brasil (RISSI et al., 2010).

A evolução clínica da doença variou de 2-8 dias, com média de 4,7 dias. Nesses casos, a forma clínica predominante da raiva bovina foi a parálitica. Raramente foram observados sinais de agressividade e mugidos frequentes. Os principais sinais clínicos nos bovinos afetados foram apatia, ataxia, dificuldade de deglutição, salivação, decúbito lateral, decúbito esternal, incordenação, paralisia dos membros torácicos, paralisia dos membros pélvicos e paresia dos membros pélvicos.

Vários autores relatam ausência de alterações de necropsia em casos confirmados de raiva bovina (SWANEPOEL, 1994; SUMMERS et al., 1995), porém, pode haver emaciação da carcaça e lesões traumáticas causadas em decorrência dos sinais clínicos. Na necropsia, podem ser observadas hiperemia dos vasos leptomeníngeos, distensão da bexiga e ampola retal

distendida e repleta de fezes. Outros achados sem significação para o diagnóstico, como enfisema pulmonar, pneumonia aspirativa, congestão, hidrotórax, hidropericárdio e fígado de coloração amarelada com a vesícula biliar distendida, também podem ser observados em alguns animais (LEMOS, 2005; LIMA et al., 2005).

Os achados histopatológicos caracterizam-se por acúmulos perivasculares de células mononucleares, gliose focal, multifocal ou difusa, meningite e corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos. As lesões do cérebro e cerebelo afetavam principalmente a substância cinzenta e no tronco encefálico são mais frequentes nos diferentes núcleos do que na substância branca. As lesões da medula podem ser observadas, principalmente, no corno ventral da substância cinzenta. As lesões do gânglio trigeminal consistem em ganglioneurite, com infiltrado inflamatório de linfócitos nos espaços interneuronais (REIS et al., 2003; LIMA et al., 2005; GALIZA et al., 2010; SILVA et al., 2010; BRAGA et al., 2013). Numa pesquisa onde se procurou identificar a distribuição das lesões no sistema nervoso em casos de raiva em herbívoros na região nordeste, a presença de corpúsculos intracitoplasmáticos de inclusão (corpúsculos de Negri) em bovinos foi de 87% (20 animais de um total de 23 estudados). Os corpúsculos foram observados com maior frequência e intensidade nos animais que sobreviveram por mais de 4 dias. O tamanho e número dos corpúsculos no pericário dos neurônios foram variáveis, sendo que, quanto mais corpúsculos numa célula, menor o seu tamanho. Em alguns casos os corpúsculos de Negri foram mais frequentes em áreas com reação inflamatória discreta, ou mesmo sem reação inflamatória, do que em áreas com lesões inflamatórias severas (LIMA et al., 2005).

Oficialmente, o diagnóstico da raiva é realizado através da técnica de imunofluorescência direta (IFD) e da prova biológica (PB), inoculação em camundongos ou células, a partir de amostras refrigeradas de SNC dos animais suspeitos (Brasil 2002b). A realização de exames histopatológicos deve ser feita sempre que possível pois além de caracterizar morfolologicamente a doença, auxilia no diagnóstico diferencial. A comparação entre métodos histoquímicos, de imunofluorescência direta e de inoculação intracerebral em camundongos tem revelado maior concordância entre imunofluorescência e inoculação intracerebral em camundongos, embora ocorram, esporadicamente resultados falsos negativos ora em uma, ora em outra técnica (CÔRTEZ et al., 1979). Porém, em casos onde inicialmente há suspeita de raiva a imuno-histoquímica pode ser utilizada na rotina laboratorial por ser um método rápido de diagnóstico (MACHADO et al., 2004). Essa técnica é eficaz especialmente

em casos onde os fragmentos de encéfalo submetidos ao laboratório foram fixados em formol, impossibilitando a realização da imunofluorescência direta ou a inoculação intracerebral em camundongos. Por vezes a detecção de antígenos do vírus da raiva por imuno-histoquímica tem sido relatada mesmo em tecido nervoso em processo de autólise (ARSLAN et al., 2004).

Pelos dados expostos, a raiva é uma doença endêmica no nordeste do Brasil. Em praticamente todos os estados nordestinos, o sistema de vigilância é frágil, tendo em vista casos de subnotificações, estratégias inadequadas de controle ou onde os exames realizados têm sido feitos apenas para confirmação da raiva, mesmo com a possibilidade de ocorrência de outras doenças nervosas em herbívoros (MAPA, 2013).

Não há tratamento e a doença é invariavelmente fatal, uma vez iniciados os sinais clínicos. A Instrução Normativa nº 5, de 1º de março de 2002, preconiza que a vacinação dos herbívoros seja realizada com vacina contendo vírus inativado, na dosagem de 2ml por animal, independentemente da idade. A vacinação é compulsória quando da ocorrência de focos da doença e deve ser adotada preferencialmente em bovídeos e eqüídeos com idade igual ou superior a 3 meses (MAPA, 2009). Em conjunto com os programas de vacinação deve-se promover a erradicação de morcegos hematófagos (BAER, 1991).

Febre catarral maligna

A febre catarral maligna (FCM) é uma doença infecciosa viral, pansistêmica, frequentemente fatal e com ampla distribuição geográfica (Plowright 1990, Loken et al., 1998, Driemeier et al., 2002). A FCM afeta principalmente ruminantes domésticos e selvagens (Li et al., 2003) e é caracterizada por distúrbios cutâneos, digestivos, respiratórios e neurológicos.

A doença é causada por um vírus do gênero *Rhadinovirus*, pertencente à família Gammaherpesvirinae (Coulter et al., 2001). Até o momento foram identificados quatro tipos de vírus que causam FCM em animais (Li et al., 2003), sendo a forma africana, produzida pela cepa Alcelaphine Herpesvírus 1 (AlHV-1), a forma ovino-associada (FCM-OA), produzida pelo herpesvírus ovino-2 (OvHV-2), um terceiro vírus que induz a FCM clássica no veado-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*) (Li et al., 2000), além de um vírus endêmico em cabras domésticas atualmente denominado herpesvírus caprino-2 ou CpHV-2 (Chmielewicz et al., 2001, Li et al., 2001). No Brasil, a FCM é frequentemente relacionada ao herpesvírus ovino do tipo 2 (OvHV-2) (Garmatz et al., 2004).

No Brasil, a doença foi descrita pela primeira vez na Paraíba por Torres (1924) e posteriormente foi diagnosticada em outros estados do Nordeste, como Rio Grande do Norte (DÖBEREINER & TOKARNIA 1959, HEADLEY et al., 2012), Bahia, Sergipe (Figueiredo et al., 1990), Piauí (Silva et al., 2001), Pernambuco (Souza et al., 2003) e em outras regiões do país, como no Sudeste (Sampaio et al., 1972, Marques et al., 1986), Sul (Barros et al., 1983, Baptista & Guidi 1988, Garmatz et al., 2004, Rech et al., 2005) e Centro-Oeste (Lemos et al., 2005). No Rio Grande do Sul foi demonstrado, por PCR, que é causada por OvHV-2 (Garmatz et al., 2004). No Mato Grosso a doença foi diagnosticada em cervídeos e bovinos (Mazama gouazoubira), com identificação do OvHV2 por PCR (Driemeier et al., 2002, Mendonça et al., 2008).

Na década de 20, a doença era conhecida como mal do chifre ou oca (TORRES et al., 1924). Porém, essa denominação era dada a diversos estados mórbidos como por exemplo esgotamento pelo trabalho, deficiência de alimentação ou oriundos de infestações parasitárias graves (TORRES 1938). Tokarnia et al., (1959), em estudo de casos da doença de etiologia obscura no nordeste conhecida como mal dos chifres, brocão, broca, mal da broca, mal da oca, mal da ponta, mal do Piauí, mal do chavelho e mal das guampas conclui que essa "doença imaginária" é diferente febre catarral maligna. Esses mesmos autores descrevem um surto de FCM no Rio Grande do Norte (DÖBEREINER & TOKARNIA 1959). Desde essa época até o presente a doença foi descrita em diversos estados do nordeste, FIGUEIREDO et al., 1990, SILVA et al, 2001, SOUZA et al., 2003), em forma de surtos com uma morbidade de 2,5-31,7% e letalidade de 93,4-100% (FIGUEIREDO et al., 1990, SILVA et al, 2001), ou casos esporádicos (SOUZA et al., 2003). Os trabalhos mais recentes foram se referem a surtos da doença na Paraíba e Rio Grande do Norte (MACÊDO et al., 2007, HEADLEY et al., 2012). De uma forma geral, os resultados desses trabalhos demonstram que a FCM é endêmica em bovinos no nordeste, com ocorrência esporádica de surtos com alta morbidade e letalidade. Macêdo et al., (2007) relata que no período de 2000-2005, no Hospital Veterinário da UFCG, a frequência de FCM foi de 3,1% e que o número de bovinos afetados pela doença anualmente pode ser estimado em 1.550 cabeças, o que representa uma incidência anual de 0,15%. Segundo esses autores a incidência anual de FCM é 22 vezes maior na Paraíba do que no Rio Grande do Sul, estado que detém uma população de bovinos significativamente maior, cerca de 14 milhões de bovinos enquanto que a Paraíba possui pouco mais de 1 milhão de cabeças (MACÊDO et al., 2007).

É provável que a FCM se comporte de forma epidemiológica similar nos outros estados nordestinos, tendo em vista os métodos de criação adotados, pois os ovinos são a fonte de infecção para os bovinos (LI et al., 2004). No Brasil existem dois grandes pólos de produção de ovinos, um na Região Sul, participando com 31% da produção nacional e outro na Região Nordeste que participa com aproximadamente 60% do efetivo nacional (IBGE 2004). Essa tradição na criação de ovinos explica a importância da FCM nestas duas regiões, provavelmente em consequência das dificuldades em evitar o contato entre essas duas espécies (MACÊDO et al., 2007).

Macroscopicamente ocorrem, na FCM, ceratite, erosões e úlceras na cavidade oral e nasal, esôfago e bexiga urinária. Necrose de papilas orais, úlceras no muflo nasal com revestimento de crosta de fibrina, descolamento de estojo córneo do casco dos membros torácicos, erosões e úlceras nos pré-estômagos, abomaso e alças intestinais com acúmulo de secreção fibrinopurulenta são lesões frequentemente observadas. No trato respiratório se pode observar avermelhamento difuso com deposição superficial de exsudado fibrinoso e por vezes purulento, principalmente na traquéia. Também ocorre aumento de volume de linfonodos, principalmente no trato digestivo, que se encontram edematosos e hemorrágicos ao corte. Evidenciação dos vasos da leptomeninge é um achado constante (BARKER et al., 1993, RECH et al., 2005, MACÊDO et al., 2007, MENDONÇA et al., 2008, HEADLEY et al., 2012).

Nos diferentes casos estudados de FCM no nordeste do Brasil, histologicamente, com variável intensidade e distribuição, as lesões consistem em inflamação perivascular e degeneração fibrinóide da parede dos vasos arteriolares e arteriais e necrose epitelial associado com infiltrado inflamatório (MACÊDO et al., 2007, HEADLEY et al., 2012). As alterações vasculares que ocorreram em diferentes órgãos consistem em infiltrado mononuclear na região perivascular com hialinização e infiltrado de linfócitos, plasmócitos e histiócitos na túnica média e adventícia. Na luz de alguns vasos pode haver trombos constituídos predominantemente por fibrina. Estes achados são constantemente observados no encéfalo, plexos coróides ventriculares, fígado, linfonodos, baço, bexiga, rins, adrenal, coração e pulmão. O epitélio de revestimento do trato digestivo e respiratório pode apresentar áreas multifocais extensas com necrose coagulativa associada a infiltrado e vasculite mononuclear. Nos linfonodos e baço se pode notar depleção linfóide e vasculite mononuclear com necrose fibrinóide de parede dos vasos. No encéfalo, a vasculite meningeana pode ser discreta a leve; com irregular intensidade de infiltrado

mononuclear e necrose fibrinóide, principalmente em vasos da substância branca (MENDONÇA et al., 2008).

A técnica da PCR é preconizada para a confirmação do diagnóstico em casos de FCM-OA (Baxter et al., 1993, O'Toole et al., 1995, Simon et al., 2003, Garmatz et al., 2004). A técnica é sensível e específica (Müller-Doblies et al., 1998) e pode ser realizada em tecidos frescos e fixados em formol (Crawford et al., 1999). As limitações desta técnica quando aplicada a materiais fixados em formol estão relacionadas à desnaturação do ácido nucléico por fixação muito prolongada ou em formol não-tamponado (Crawford et al., 1999, Garmatz et al., 2004).

Devido à similaridade com outras doenças a vírus, tais como febre aftosa, estomatite vesicular e diarreia viral bovina-doença das mucosas (BVD-MD), o diagnóstico de FCM em bovinos deve ser baseado nos critérios epidemiológicos, clínicos e patológicos (Barker et al., 1993). A lesão histológica pode ajudar no diagnóstico de FCM, mas mesmo assim, as semelhanças entre FCM e BVD-MD existem, pois necrose hialina e fibrinóide das artérias mesentéricas e da submucosa do intestino são observadas em ambas as doenças. Entretanto, sabe-se que vasculite da *rete mirabile* carotídea é um achado importante para caracterização da FCM em bovinos. (Riet-Correa et al., 2003, Lemos et al., 2005, Rech et al., 2005), podendo ser considerado um achado constitutivo da FCM (Barker et al., 1993).

Os dados apresentados acima confirmam a importância da FCM para o rebanho bovino do nordeste e evidência a necessidade de alertar aos médicos veterinários da região para o correto diagnóstico da enfermidade e a adoção das medidas de controle adequadas.

Outras doenças neurológicas importantes

As informações sobre doenças atribuídas a agentes bacterianos que afetam o sistema nervoso de bovinos são escassas no nordeste. No Rio Grande do Sul essas alterações foram relatadas em 9,51% dos casos de bovinos com sinais clínicos de distúrbios nervosos (SANCHES et al., 2000).

As principais bactérias envolvidas no desenvolvimento de abscessos no SNC são *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Fusobacterium necrophorum* e *Pseudomonas* spp (FERNANDES, 2001; LORETTI et al., 2003; RISSI et al., 2010). Quando da ocorrência de infecção por essas bactérias, leptomeningite supurativa é por vezes um achado comum. Geralmente essa lesão está associada

à disseminação hematogena de lesões em outros locais, como abscessos de pituitária, artrite e oftalmite em bezerros. Quando ocorreram em bovinos adultos, podem ser caracterizadas por formação de abscessos metastáticos associados a descorna e osteomielite (RISSI ET AL., 2010).

Em um estudo realizado no semiárido da Paraíba (GALIZA et al., 2010) as doenças bacterianas somaram vinte e três casos. Oito casos de abscessos no SN foram diagnosticados, incluindo três casos de abscesso da pituitária que ocorreram em animais jovens com idade de 30 dias a seis meses. Nesses bovinos os sinais clínicos consistiram principalmente em apatia, anorexia, salivação, dispnéia, incoordenação, dismetria, tremores musculares, diminuição da acuidade visual, nistagmo, diminuição dos reflexos, pressão da cabeça contra obstáculos, arqueamento do dorso, andar em círculos, decúbito lateral e movimentos de pedalagem (GALIZA et al., 2010).

Na necropsia as principais lesões consistiram em exsudato purulento na superfície das leptomeninges que podem se estender do tálamo até porção final do tronco encefálico e cerebelo. Lesões hipofisárias são consistentes com aumento de volume da região da hipófise que pode apresentar consistência flutuante. Histologicamente, nas áreas afetadas pelos abscessos, a inflamação é neutrofílica; podem se observar restos celulares envolvidos por tecido conjuntivo, e infiltrado inflamatório neutrofílico com deposição de fibrina nas leptomeninges (GALIZA et al., 2010).

A intoxicação botulínica é uma importante causa de mortalidade bovina na pecuária extensiva (DUTRA et al., 2005). De 1986 a 1995, o botulismo causou a morte de mais de 6 milhões de bovinos adultos no Brasil (DUTRA 2001). Essa doença manifesta-se como doença epizootica em regiões geográficas com acentuada deficiência de fósforo. Os animais procuram suprir a falta desse mineral na alimentação através da ingestão de ossos de cadáveres. Esta necessidade orgânica leva os bovinos ao curioso hábito de roerem ossos. Tal circunstância constitui-se no principal fator para a ocorrência e disseminação de botulismo em bovinos sob forma epizootica, pois o *Clostridium botulinum*, desenvolvendo-se nos cadáveres, produz a toxina botulínica com a qual os animais se intoxicam quando pela osteofagia ingerem tecidos em decomposição (TOKARNIA et al., 1970). No nordeste do Brasil, vários surtos de botulismo estão associados ao consumo de cama de frango (GALIZA et al., 2010). Porém a ingestão de água contaminada pode ser também uma forma importante para a ocorrência da doença. Nesses casos a mortalidade pode variar de 7,5 a 37,5% enquanto nos casos de botulismo

associado ao consumo de cama de frango a mortalidade pode variar entre 10,8 a 33% (GALIZA et al., 2010).

O Ministério da Agricultura do Brasil proíbe a utilização da cama de frango na alimentação de bovinos, entretanto, seu uso como alimento tem sido uma prática comum nos períodos de escassez de pastagens (RIET-CORREA et al., 2003). A não ocorrência de botulismo associado à osteofagia deve-se, provavelmente, à carência de fósforo, e portanto a osteofagia, no semiárido é bem menos grave que em outras regiões do Brasil, principalmente as áreas de Cerrado e a região Norte (RIET-CORREA 2007a).

O início dos sinais clínicos e a severidade dos mesmos estão intimamente relacionados com a quantidade de toxina ingerida, assim o período de incubação pode variar de algumas horas até vários dias (BIENVENU et al., 1990). Os principais sinais clínicos consistem em incoordenação, ataxia e paralisia flácida progressiva, acometendo primeiramente os músculos dos membros posteriores. Esses sinais ocorrem principalmente na fase inicial da doença (SMART & ROBERTS, 1997, LOBATO et al., 2008). A paralisia afeta também a deglutição e a mastigação, ocorrendo sialorréia e protusão da língua. O psiquismo dos animais afetados, porém, permanece inalterado. Posteriormente a doença evolui para decúbito lateral e morte por parada respiratória. Em várias ocasiões os animais são encontrados mortos sem que nenhum ou poucos sinais clínicos sejam observados (BIENVENU et al., 1990). À necropsia não são observadas alterações significativas, visualizado-se, no máximo, uma congestão geral da carcaça (SMART & ROBERTS, 1997).

Em ruminantes, fragmentos do fígado e do conteúdo intestinal e ruminal, além da água e de alimentos recém-consumidos pelos animais afetados, são os materiais preferidos para a pesquisa das toxinas (KELCH et al., 2000).

Outra doença neurológica importante na região nordeste é a Polioencefalomalacia (PEM) ou necrose cerebrocortical. Essa enfermidade neurológica, não infecciosa dos ruminantes pode ser causada por alterações no metabolismo da tiamina, associadas a dietas altas em concentrados, levando a acidose clínica ou subclínica, que reduz o número de microrganismos do rume que sintetizam tiamina, bem como permite o crescimento das bactérias que produzem tiaminase; ingestão de análogos da tiamina, como o amprólio; ingestão de vegetais contendo tiaminases; intoxicação por enxofre; privação de água e/ou intoxicação por cloreto de sódio; e intoxicação por chumbo (CARLTON & MCGAVIN 1990, SMITH & SHERMAN 1994, RADOSTITS ET AL 2000, LEMOS & NAKAZATO 2001).

Clínica e patologicamente a doença se apresenta de forma similar em bovinos. Os principais sinais clínicos são apresentados no Quadro 1 abaixo:

Quadro 1. Frequência de sinais clínicos em 30 casos de polioencefalomalacia em bovinos.

Sinais clínicos	Frequência
Incoordenação	17 (57%)
Decúbito	17 (57%)
Cegueira	14 (47%)
Opistótono	11 (37%)
Movimentos de pedalagem	6 (20%)
Andar em círculos	5 (17%)
Ataxia	3 (10%)
Quedas frequentes	3 (10%)
Bruxismo	3 (10%)
Sialorréia	3 (10%)
Nistagmo	3 (10%)
Depressão	2 (6,7%)
Afastamento do rebanho	2 (6,7%)
Convulsões	2 (6,7%)
Emagrecimento progressivo	2 (6,7%)
Apatia	2 (6,7%)
Desidratação	2 (6,7%)
Secreção nasal	2 (6,7%)
Ausência de reflexo de ameaça	2 (6,7%)
Paralisia flácida dos membros pélvicos	2 (6,7%)
Tetania	2 (6,7%)
Agressividade	2 (6,7%)
Miose	1 (3,3%)
Anorexia	1 (3,3%)
Fezes ressecadas	1 (3,3%)
Estrabismo	1 (3,3%)
Diminuição de tônus da língua	1 (3,3%)
Paralisia da cauda	1 (3,3%)
Prostração	1 (3,3%)
Balanços da cabeça	1 (3,3%)
Hiperexcitabilidade	1 (3,3%)
Rigidez dos membros pélvicos	1 (3,3%)
Diarréia	1 (3,3%)
Fraqueza	1 (3,3%)
Anúria	1 (3,3%)
Febre	1 (3,3%)
Conjuntivite	1 (3,3%)

Fonte: Sant'Ana et al., (2009).

Os principais achados descritos no encéfalo consistem em congestão e tumefação com achatamento das circunvoluções cerebrais e em alguns casos, pode haver áreas multifocais amolecidas e amareladas. Adicionalmente, focos de hemorragia podem ser visualizados no tronco encefálico, cerebelo, telencéfalo e herniação cerebelar. Em vários casos alterações macroscópicas podem não ser observadas. Ao exame histológico observa-se necrose laminar do córtex cerebral afetando todas as camadas ou somente as intermediárias, caracterizada por palidez (perda da eosinofilia) do córtex, aumento dos espaços perivasculares e perineuronais, vacuolização do neurópilo, presença de neurônios eosinofílicos, hiperplasia e tumefação das células endoteliais dos vasos sanguíneos Sant'Ana et al. (2009). Pode haver ainda infiltração de células Gitter e cavitação. Também podem ser observados esferóides axonais, hemorragias e discretos astrócitos reativos, gliose e infiltrado inflamatório ao redor de vasos e meninges (LIMA et al., 2005).

OBJETIVOS

Objetivo Geral

- ✓ Estudar as doenças neurológicas em bovinos no Estado de Pernambuco.

Objetivos Específicos

- ✓ Estudar a epidemiologia, sinais clínicos e lesões macro e microscópicas da meningoencefalite necrosante associada ao herpesvírus bovino tipo-5 no Estado de Pernambuco.
- ✓ Realizar o diagnóstico de meningoencefalite necrosante associada ao herpesvírus bovino tipo-5 por PCR.

ARTIGO CIENTÍFICO

OLIVEIRA, J.S.; ALBUQUERQUE, R.F.; AGUIAR-FILHO, C.R.; ARRUDA, L.P.;
COLODEL, E.M.; ROCHA, B.P.; EVÊNCIO-NETO, J.; MENDONÇA, F.S.
Meningoencefalite necrosante em bovinos associada ao herpesvírus bovino-5 em Pernambuco -
Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 42, p. 43, 2014.

Meningoencefalite necrosante em bovinos associada ao herpesvírus bovino-5 em Pernambuco - Brasil

Necrotizing meningoencephalitis in cattle associated to bovine herpesvirus-5 in Pernambuco - Brazil

Juceli Souza Oliveira¹, Raquel Feitosa Albuquerque², Dayane Dias Coutinho Cavalcanti de Lima², Cristiano Rocha Aguiar-Filho³, Laura Peixoto de Arruda⁴, Edson Moleta Colodel⁴, Brena Pessoa Rocha⁵, Joaquim Evêncio-Neto⁵ & Fábio Souza Mendonça⁵

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical. Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brasil. ³Secretaria do Desenvolvimento da Agropecuária e da Pesca da Paraíba (SEDAP). Guarabira, PB, Brasil. ⁴Departamento de Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil. ⁵Laboratório de Diagnóstico Animal, DMFA-UFRPE, Recife, PE, Brasil. CORRESPONDÊNCIA: F.S. Mendonça [fabio.mendonca@pq.cnpq.br - Tel: +55 (81) 3320-6387]. UFRPE, CEP 52171-900 Recife, PE, Brasil.

ABSTRACT

Background: Bovine Herpesvirus-5 (BoHV-5) is the most important cause of encephalopathy in cattle in Brazil. Necrotizing meningoencephalitis is an acute or subacute infectious disease that has low morbidity, higher fatal outcome and affects animals of all age groups, but especially young cattle under stress situations. The disease may occur like outbreaks or affect cattle alone. The mortality and morbidity varies from 75-100% and 0.05 to 22% respectively. This study aims to report the occurrence of two outbreaks of meningoencephalitis caused by bovine herpesvirus-5 diagnosed in the state of Pernambuco in the years 2011-2012.

Materials, Methods & Results: The epidemiological data and clinical signs were obtained with the veterinarians of the two properties where the outbreaks occurred. Samples of brain, spinal cord and tissues fragments from the thoracic and abdominal cavities were collected. Thus the material was fixed in 10% buffered formalin and processed routinely for

histopathological examination. After fixation of the brain, fragments of cerebral cortex, basal ganglia, thalamus, midbrain, cerebellar peduncles, cerebellum, bridge, medulla oblongata and cervical spinal cord were immunohistochemically processed for rabies. CNS samples were also subjected to PCR for detection of BoHV-5. In affected cattle, the main clinical signs consisted of circling, blindness, nasal and ocular discharge, head pressing, muscle tremors, incoordination, and permanent lateral recumbence followed by death. At necropsy no significant changes were observed. After cutting the brain previously fixed in formaldehyde solution, softened grayish areas of granular appearance and cavitations in the cerebral cortex, midbrain, hippocampus, thalamus, basal ganglia and cerebellum were observed. Microscopically there was nonsuppurative meningitis and diffuse encephalitis with perivascular cuffs, mononuclear or undifferentiated cells and neuronal necrosis. In areas of polioencefalomalacia there was neuronophagia and the presence of Gitter cells. In the samples submitted to PCR there was amplification of DNA from BoHV-5.

Discussion: The diagnosis of necrotizing meningoencephalitis by BoHV-5 was based on the epidemiology, clinical signs, gross lesions characteristic histological and especially in molecular detection of viral DNA, similar to those described in other cases of the disease. In Pernambuco, the disease had not yet been described. In the State of Paraíba, three cases with characteristic lesions of meningoencephalitis by BoHV-5 were diagnosed. But in these cases the diagnosis was only based on clinical signs and lesions in the CNS of affected cattle. Despite the apparent low prevalence of the disease in northeastern Brazil, the disease has seems to be more frequent and many other outbreaks are not probably diagnosed, especially outside of areas covered by the veterinary diagnostic laboratories. In CNS samples of this study, there were no eosinophilic intranuclear inclusion bodies in astrocytes. In those cases the IHC for rabies becomes an important methodology in the differential diagnosis of the disease, especially in tissues embedded in paraffin and fixed in formalin where there is non-suppurative meningoencephalitis in which inclusion bodies are not observed. The results of this study confirmed the BoHV-5 infection in cattle in the state of Pernambuco, where the PCR using primers that encode protein C (gC) were used.

Keywords: bovine, diseases of central nervous system, bovine herpesvirus, malacia, PCR.

Descritores: bovinos, doenças do sistema nervoso central, herpesvírus, malacia, PCR.

INTRODUÇÃO

Herpesvírus Bovino-5 (BoHV-5) é um alfa herpesvírus, pertencente à família Herpesviridae, subfamília Alpha herpesvirine e gênero *Varicellovirus* [18]. Esse vírus provoca meningoencefalite em bovinos [11], sendo uma das principais causas de encefalopatia nos rebanhos brasileiros [12]. A meningoencefalite necrosante caracteriza-se como uma doença infecto-contagiosa aguda ou subaguda, de baixa morbidade [12], altamente fatal e atinge animais de todas as faixas de idade, mas principalmente bovinos jovens submetidos a situações de estresse [17,20]. A doença pode ocorrer na forma de surtos ou afetar bovinos isoladamente [1,3,4,5,15,16,19] sendo que a mortalidade varia de 75-100 % e a morbidade pode apresentar valores de 0,05-22% [3,16].

No Brasil, a doença é endêmica em vários Estados da região Sudeste, Centro-Oeste e Sul [3,4,5,9,16] e na região norte do país a doença foi descrita no Estado do Pará [15]. No nordeste do Brasil, casos esporádicos de meningoencefalite necrosante foram descritos no Estado da Paraíba, porém nesses casos o DNA viral não foi isolado [8].

O presente trabalho tem por objetivo relatar a ocorrência de dois surtos de meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 diagnosticados no Estado de Pernambuco nos anos de 2011-2012.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados referentes à epidemiologia e aos sinais clínicos foram obtidos com os médicos veterinários das propriedades onde ocorreram os dois surtos da doença. No primeiro surto, um bovino foi necropsiado pela equipe do Laboratório de Diagnóstico Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LDA-UFRPE). Coletaram-se encéfalo, medula espinhal e fragmentos dos órgãos das cavidades torácica e abdominal. O material coletado foi fixado em formol a 10% tamponado e processado rotineiramente para exame histopatológico. Um segundo bovino foi necropsiado pelo médico veterinário da propriedade que remeteu ao LDA-UFRPE, encéfalo, medula espinhal e órgãos da cavidade torácica e abdominal conservados em formol a 10%.

Após a fixação do encéfalo dos bovinos, foram realizados cortes transversais seriados de fragmentos de córtex cerebral, núcleos da base, tálamo, mesencéfalo,

pedúnculos cerebelares, cerebelo, ponte, medula oblonga e medula cervical. Amostras dos encéfalos fixadas em formol e emblocadas em parafina foram submetidas à técnica de imuno-histoquímica (IHQ) para raiva conforme [13]. Para isto, utilizou-se recuperação antigênica com calor e solução de tampão citrato 10mM (pH 6,0) e anticorpo primário policlonal² na diluição de 1:1000 em PBS (phosphate buffered saline), durante 60 minutos em estufa a 37⁰C. Para revelação, empregou-se cromógeno vermelho¹ por 5 minutos. Posteriormente, as lâminas foram contra-coradas com hematoxilina de Harris por 1 minuto e avaliadas em microscópio óptico quanto à presença de marcações.

Amostras do SNC foram também submetidas à PCR para detecção de BoHV-5 conforme [2] A extração de DNA foi obtida utilizando fenol-clorofórmio modificado. Os *primers* utilizados que codificam a glicoproteína C (gC) foram B1, específico para BoHV-1 (5-CAA CCG AGA CGG AAA GCT CC-3 nt. 185-204), B5, para BoHV-5 (5-CGG ACG AGA CGC CCT TGG-3nt. 322-339) e Bcon, *primer* consenso [5-AGT GCA CGT ACA GCG GCT CG 3nt. 519-538 (BoHV-1) e nt. 461-480 (BoHV-5)], amplificando um produto de 354pb para BoHV-1 e 159pb para BoHV-5. A leitura foi feita por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio e analisado em transluminador (UV-300nm).

RESULTADOS

Os surtos foram observados nos Municípios de São Lourenço da Mata e Moreno, Região Metropolitana do Recife, Pernambuco. O primeiro surto ocorreu numa propriedade pequena, com menos de 10 hectares onde eram criados semi-extensivamente 18 bovinos. Foram afetados três bovinos, dois da raça nelore e outro mestiço de holandês, com idades de sete meses a dois anos. A evolução do quadro clínico nos bovinos afetados foi de cinco a sete dias. O segundo surto ocorreu em agosto de 2012, numa propriedade de 21 hectares e resultou na morte de dois bezerros da raça nelore com quatro meses de idade. A evolução do quadro clínico nos bezerros afetados foi de quatro dias.

Os sinais clínicos observados foram similares nos bovinos das duas propriedades e consistiram em isolamento do rebanho, andar em círculos, apatia, anorexia, tremores de cabeça e pescoço, corrimento nasal, cegueira, pressão da cabeça contra objetos, incoordenação, depressão acentuada, catatonia, decúbito esternal e em seguida decúbito

lateral permanente seguido de morte (Fig.1). Na necropsia, não foram observadas alterações significativas. Ao corte do encéfalo, após a fixação, foi observada áreas de aspecto granular, com coloração acinzentada, amolecidas e cavitações no córtex telencefálico, mesencéfalo, colículo rostral, pedúnculos cerebrais (substância nigra e crus cerebri), hipocampo, tálamo e núcleo geniculado medial (Fig. 2).



Figura 1. Bezerro de 7 meses de idade com meningoencefalite necrosante associada ao herpesvírus bovino-5 demonstrando opistótono.



Figura 2. Áreas de aspecto granular, com coloração acinzentada, amolecidas e presença de cavitações no encéfalo de bovino fixado em formol a 10%.

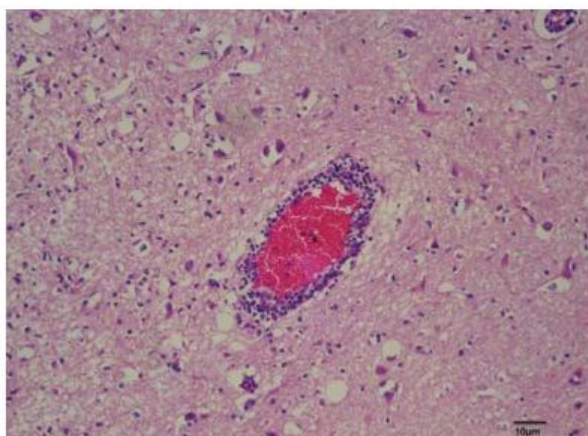


Figura 3. Tálamo apresentando manguito perivascular, aumento do status spongiosus e neurônios vermelhos (H&E 40x). [Barra: 10 µm].

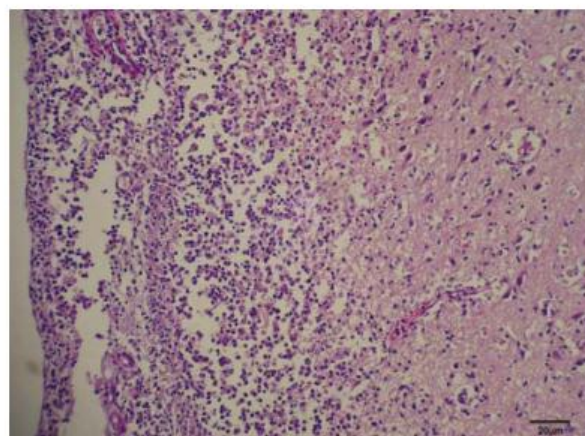


Figura 4. Meningite linfocitária e malacia severa do córtex telencefálico com infiltrado de células mononucleares (H&E 20x). [Barra: 20 µm].

Microscopicamente, havia meningoencefalite necrosante não supurativa difusa. Nos dois bovinos examinados notou-se necrose cortical cerebral laminar, com acúmulo de células mononucleares indiferenciadas, plasmócitos e células Gitter, principalmente nos espaços perivascular e submeningeano (Fig. 3). Manguitos perivascular linfoplasmocitários, acúmulo discreto de neutrófilos, necrose neuronal, neuronofagia células Gitter (Fig. 4) foram observadas em outras áreas de malacia nos núcleos da base, tálamo, mesencéfalo e pedúnculos cerebelares. No cerebelo, ponte, medula oblonga e

medula cervical não foram observadas lesões. Na IHQ não houve marcação do antígeno rábico. Nas amostras submetidas à PCR houve amplificação do DNA de BoHV-5.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de meningoencefalite necrosante por BoHV-5 foi baseado na epidemiologia, sinais clínicos, lesões macroscópicas, achados histológicos característicos e principalmente na detecção molecular de DNA viral, similares aos descritos em outros casos da doença [2,6,8,15]. Os sinais clínicos e achados de necropsia como os que são relatados neste trabalho são importantes para o diagnóstico presuntivo de meningoencefalite necrosante por BoHV-5. Porém, outras enfermidades que afetam o SNC de bovinos onde os sinais clínicos podem ser principalmente cerebrais, tais como polioencefalomalacia e raiva, devem ser levadas em consideração no diagnóstico diferencial.

Em Pernambuco, a doença ainda não havia sido descrita. No Estado da Paraíba, três casos com lesões características de meningoencefalite por BoHV-5 foram diagnosticados em bovinos com idade entre 18 e 24 meses de idade. Porém nesses casos o diagnóstico se baseou unicamente nos sinais clínicos e lesões histológicas do SNC dos bovinos afetados [8]. Apesar da aparente baixa prevalência da enfermidade na região Nordeste do Brasil, é provável que a mesma seja mais frequente e que muitos surtos não sejam diagnosticados, especialmente fora das áreas de abrangências dos laboratórios de diagnóstico veterinário.

Não é possível afirmar que todas as mortes nos rebanhos estudados foram decorrentes da infecção por BoHV-5. Porém, as observações do quadro clínico compatível, além de lesões macroscópicas e microscópicas semelhantes às descritas por outros autores [5,16,17] são evidências da importância dessa enfermidade como causa de alterações neurológicas para estes rebanhos. A doença pode aparecer em forma de surtos e afetar esporadicamente bezerros lactantes [10], como nos casos descritos neste trabalho e em alguns casos até 30% do rebanho pode ser afetado. Em casos esporádicos de meningoencefalite necrosante por BoHV-5, são afetados principalmente bovinos jovens de 6-7 meses, mas com menor frequência animais adultos maiores de 3 anos de idade também podem ser afetados [10].

Em um dos casos avaliados não ocorreu amplificação de DNA viral. Acredita-se que o tempo em que as amostras permaneceram em solução de formalina a 10%, possa ter limitado a amplificação, pois em amostras de encéfalos com meningoencefalite por BoHV-5 que permaneceram em média uma semana em formalina tamponada, a 10% a detecção de DNA viral foi possível em 75% dos casos analisados [7]. Um estudo onde as amostras permaneceram por mais de 10 dias em solução de formalina demonstrou que a amplificação do DNA viral ocorreu com menor frequência; em apenas 7 (21,8%) das amostras [6]. Em outro estudo, a Identificação de DNA de BoHV-5 foi positiva em 40% das amostras que tinham diagnóstico de meningoencefalite necrosante com características de infecção por BoHV-5 e em 47,3% das amostras que tinham diagnóstico de meningoencefalite não-suprativa inespecífica. Outros fatores como quantidades insuficientes de DNA viral no tecido, falhas na extração do DNA e ausência do DNA, podem também influenciar negativamente o resultado do exame. Outro fator que deve ser levado em consideração é que mesmo em amostras em que havia presença de inclusões intranucleares em astrócitos, o DNA de BoHV-5 não foi identificado em 33,4% dos tecidos analisados [2].

Nas amostras de SNC deste estudo, não se observaram corpúsculos de inclusão eosinofílicos intranucleares em astrócitos. Deve-se lembrar de que nesses casos a IHQ para raiva torna-se uma metodologia importante no diagnóstico diferencial da doença; principalmente em tecidos emblocados em parafina e fixados em formol onde há meningoencefalite não-suprativa nos quais corpúsculos de inclusão não são observados [13].

CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho confirmaram a infecção por BoHV-5 em bovinos no Estado de Pernambuco, em que a técnica de PCR utilizando-se *primers* que codificam a proteína C (gC) foram utilizadas. A utilização desta técnica molecular associada aos dados epidemiológicos, clínicos e patológicos se demonstrou como importante ferramenta para o diagnóstico desta doença.

REFERÊNCIAS

- 1 **Aquino-Neto H.M., Carvalho A.U., Facury Filho E.J., Ferreira P.M., Barbosa-Stancioli E.F., Lobato Z.I.P., Alvarenga M.R., Serrano A.L., Martins R.A. & Afonso D.A.F. 2009.** Meningoencefalite por Herpesvirus bovino 5 em Minas Gerais: relato de caso clínico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 61(1): 1-5.
- 2 **Arruda L.P., Nakazato L., Dutra V., Lemos R.A.A., Nogueira A.P.A., Cruz R.A.S., Pescador C.A. & Colodel, E.M. 2010.** Detecção molecular de herpesvírus bovino 1 e 5 em amostras de encéfalo conservadas em formol e emblocadas em parafina provenientes de bovinos com doença neurológica. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(8): 646-650.
- 3 **Schild A.L., Riet-Correa F., Pereira D.B., Ladeira R., Raffi M.B., Andrade G.B. & Schuch L.F. 1994.** Doenças diagnosticadas pelo Laboratório Regional de Diagnóstico no ano de 1993 e comentários sobre algumas doenças. *Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico*, n.14, Pelotas. 97p.
- 4 **Colodel E.M., Nakazato L., Weiblen R., Mello R.M., Silva R.R.P., Souza M.A., Oliveira J.A.F. & Caron L. 2002.** Meningoencefalite necrosante causada por herpesvírus bovino no Estado de Mato Grosso, Brasil. *Ciência Rural*. 32(2): 293-298.
- 5 **De Paula R.R., Souza M.A., Colodel E.M., Hübner S.O., Brum K.B., Jorge K.B.C. & Damasceno A.D. 2005.** Meningoencefalite causada pelo BHV-5 em um bovino no Estado de Goiás. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 57(1): 2.
- 6 **Elias F., Schild A.L. & Riet-Correa F. 2004.** Meningoencefalite e encefalomalacia por Herpes vírus bovino-5 (BHV-5): distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 24 (3): 123-131.
- 7 **Ely R.W., D'offay J.M., Ruefer A.H. & Cash C. 1996.** Bovine herpesviral encephalitis: a retrospective study on archived formalin-fixed, paraffin-embedded brain tissue. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 8: 487-492.
- 8 **Ferrari H.F., Luvizotto M.C.R., Rahal P. & Cardoso T.C. 2007.** Detection of bovine Herpesvirus type 5 in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine brain by PCR: a useful adjunct to conventional tissue-based diagnostic test of bovine encephalitis. *Journal of Virology Methods*. 146: 335-340.

- 9 **Galiza G.J.N., Silva M.L.C.R., Dantas A.F.M., Simões S.V.D. & Riet-Correa F. 2010.** Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30: 267-276.
- 10 **Gomes L.I., Rocha M.A., Costa E.A., Lobato Z.I.P., Mendes L.C.N., Borges A.S., Leite R.C. & Barbosa-Stancioli E.F. 2002.** Detecção de herpesvírus bovino 5 (BoHV-5) em bovinos do Sudeste Brasileiro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 54(2): 217-220.
- 11 **Halfen D.C. & Riet-Correa F., 2007.** Infecções por Herpesvírus Bovino-1 e Herpesvírus Bovino-5. p. 126-137. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A., Borges J.R.J. *Doenças de ruminantes e eqüídeos*. Vol. 2. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria, RS.
- 12 **Johnston L.A.Y., Simmons G.C. & McGavin M.D. 1962.** A viral meningoencephalitis in calves. *Australian Veterinary Journal*. 38: 207-215.
- 13 **Lisbôa J.A.N., Isernhagen A.J., Borges A.S., Amorim R.M.A., Balarin M.R.S., Lunardi M. & Alfieri A.A. 2009.** Hematological and cerebrospinal fluid changes in cattle naturally and experimentally infected with the bovine herpesvirus 5. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 52: 69-76.
- 14 **Pedroso P.M.O., Pescador C.A., Bandarra P.M., Raymundo D.L., Borba M.R., Wouters F., Bezerra Júnior P.S. & Driemeier D. 2008.** Padronização da técnica de imuno-histoquímica para raiva em amostras de sistema nervoso central de bovinos fixados em formol e emblocados em parafina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 28: 627-632.
- 15 **Pedroso P.M.O., Colodel E.M., Pescador C.A., Arruda L.P. & Driemeier D. 2009.** Aspectos clínicos e patológicos em bovinos afetados por raiva com especial referência ao mapeamento do antígeno rábico por imuno-histoquímica. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29(11): 899-904.
- 16 **Riet-Correa G., Duarte M.D., Barbosa J.D., Oliveira C.M.C., Cerqueira V.D., Brito M.F. & Riet-Correa F. 2006.** Meningoencefalite e polioencefalomalacia causadas por Herpesvírus bovino-5 no estado do Pará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 26(1): 44-46.
- 17 **Rissi D.R., Oliveira F.N., Rech R.R., Pierezan F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2006.** Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos

- afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino- 5. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 26: 123-132.
- 18 **Rissi D.R., Rech R.R., Flores E.F., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2007.** Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 27: 251-260.
- 19 **Roizman B., Desrosiers R.C., Fleckenstein B., Lopez C., Minson A.C. & Studdert M.J. 1992.** The family herpesviridae: An update. *Archives of Virology*. 28(1): 1-7.
- 20 **Salvador C.S., Lemos R.A.A., Riet-Correa F., Roehe P.M. & Osório A.L.A.R. 1998.** Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 18(2): 76-83.
- 21 **Studdert M.J. 1989.** Bovine encephalitis herpesvirus. *Veterinary Record*. 125: 58

DISCUSSÃO

No nordeste do Brasil, assim como em outras regiões do país, as doenças neurológicas são importante causa de mortes de bovinos e conseqüentemente de severas perdas econômicas. De acordo com os dados levantados na literatura científica, a raiva é a principal doença neurológica que afeta bovinos em toda região nordeste. Entre os anos de 2006 a 2012, foram registrados aproximadamente cerca de 1.000 focos de raiva bovina em todo o nordeste. Dos cerca de 2.297 exames realizados, 1040 (45,2%) foram positivos para raiva (MAPA, 2013).

Dessa forma, em mais da metade dos casos neurológicos em bovinos, outros agentes etiológicos são responsáveis pela doença. Nesses casos, dependendo dos sinais clínicos observados, as principais doenças a serem incluídas no diagnóstico diferencial são a meningoencefalite causada pelo BoHV-5, a febre catarral maligna, os abscessos no sistema nervoso e o botulismo.

Estudos realizados no semiárido nordestino onde se determinou a ocorrência das doenças ocorridas no sistema nervoso indicam que o BoHV-5 foi responsável por menos de 3,0% dos casos neurológicos diagnosticados (GALIZA et al., 2010). No Estado da Paraíba, acredita-se que o número de casos de meningoencefalite herpética pode ser bem maior, tendo em vista a escassez de estudos fora da área da abrangência do Laboratório de Patologia Veterinária da do Campus de Patos da Universidade Federal de Campina Grande. Essa mesma realidade pode ser observada em outros estados nordestinos, principalmente em regiões onde o serviço de vigilância é escasso ou onde os laboratórios de diagnóstico veterinário não tenham tradição na elucidação de doenças de animais de produção.

Em relação a FCM percebe-se que a doença é endêmica em bovinos no nordeste, com ocorrência esporádica de surtos com alta morbidade e letalidade. Na Paraíba, por exemplo a incidência anual de FCM é 22 vezes maior na Paraíba do que no Rio Grande do Sul, estado que detém uma população de bovinos significativamente maior (MACÊDO et al., 2007). Nos outros estados nordestinos, é provável que a FCM se comporte de forma epidemiológica similar, tendo em vista os métodos de criação adotados.

As encefalites causadas por agentes bacterianos são igualmente importantes para bovinos no nordeste. As principais bactérias envolvidas no desenvolvimento de abscessos no SNC são *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*,

Streptococcus spp., *Fusobacterium necrophorum* e *Pseudomonas* spp (FERNANDES, 2001; LORETTI et al., 2003; RISSI et al., 2010). Quando da ocorrência de infecção por essas bactérias, leptomeningite supurativa é por vezes um achado comum. Geralmente essa lesão está associada à disseminação hematogena de lesões em outros locais, como abscessos de pituitária, artrite e oftalmite em bezerros. Quando ocorreram em bovinos adultos, podem ser caracterizadas por formação de abscessos metastáticos associados a descorna e osteomielite (RISSI ET AL., 2010).

A intoxicação botulínica é uma importante causa de mortalidade bovina na pecuária extensiva (DUTRA et al., 2005). No nordeste do Brasil, vários surtos de botulismo estão associados ao consumo de cama de frango devido a sua larga utilização, apesar da proibição do MAPA (GALIZA et al., 2010). Portanto, ocorrência de botulismo associado à carência de fósforo e osteofagia no nordeste, principalmente na região semiárida é bem menos grave que em outras regiões do Brasil (RIET-CORREA 2007a).

Em todos os casos de doença neurológica em bovinos é fundamental que sejam realizados exames clínicos corretos, para que se possa saber a possível localização das lesões no sistema nervoso (SN). Com base nessas informações, é possível, inclusive recomendar o sacrifício de animais sem possibilidades de tratamento. Porém, no estudo das enfermidades do SN é necessário um intercâmbio permanente entre o clínico e o patologista. Isto significa que o clínico deve incorporar a sua rotina a realização sistemática de necropsias e o envio dos materiais mais adequados para o diagnóstico no laboratório (RIET-CORREA et al., 2002).

Em uma necropsia correta do SN é necessário retirar o encéfalo inteiro (cérebro, cerebelo e tronco encefálico). Quando se suspeita de uma enfermidade infecciosa o encéfalo deve ser cortado longitudinalmente. Uma metade deve ser fixada em formol a 10% (ou até 20-30% para fixação mais rápida e eficiente) em um volume aproximado de uma parte de tecido em 10 partes de formol. A outra metade deve ser enviada refrigerada para exame microbiológico. Apesar das dificuldades, a campo, de retirar a medula nos grandes animais, isto é necessário quando o animal apresenta sinais clínicos que sugerem uma lesão medular ou uma lesão difusa do SN. Antes de realizar o exame do SN é necessário conhecer os dados epidemiológicos e a história clínica do caso com a maior precisão possível. Conhecer a evolução clínica do animal é importante: cistos, tumores e abscessos podem ter evolução lenta; enfermidades infecciosas, que causam inflamação difusa do SN, e traumatismos tem evolução rápida. O conhecimento das diferentes enfermidades que afetam o sistema nervoso dos ruminantes na região onde o médico veterinário trabalha é, também, muito importante (RIET-CORREA et al., 2002).

CONCLUSÃO

No nordeste do Brasil a ocorrência de doenças do sistema nervoso de bovinos é alta. As três principais doenças neurológicas provocadas por vírus são, raiva, febre catarral maligna e meningoencefalite associada ao BoHV-5.

Os resultados apresentados nessa dissertação registram pela primeira vez a ocorrência de meningoencefalite em amostras de sistema nervoso central de bovinos submetidas à PCR com amplificação do DNA de BoHV-5 no Estado de Pernambuco.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, D.A.F.; ORTEGA, L.S.; REDONDO, R.A.F.; TRINDADE, G.F. & BARBOSA-STANCIOLI, E.F. Characterization on field bovine herpesvirus samples using random amplified polymorphic DNA (RAPD). **Journal Virological Methods**, v.140, p.200-205, 2007.
- ARSLAN, A.; SAGLAM, Y.S.; TEMUR, A. Detection of rabies viral antigen in non-autolysed and autolysed tissues by using na immunoperoxidase technique. **Veterinary Record**. v. 155, n. 18, p. 550-552, 2004.
- BAER, G. Vampire bat and bovine paralytic rabies. In: IBID (Ed.). *The natural history of rabies*. Boca Raton: CRC, 1991. p. 389-404.
- BAPTISTA, F.Q.; GUIDI, P.C. Febre catarral maligna no Estado do Paraná. **A Hora Veterinária**. Porto Alegre, v. 45, p. 33-37, 1988.
- BARBOSA, A.C.V.C.; BRITO, W.M.E.D.; ALFAIA, B.T. Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no estado de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**. v. 35, n. 6, p. 1368-1373, 2005.
- BARKER, I.K.; VAN DREUMEL, A.A.; PALMER, N. The alimentary system. In: JUBB, K.V.C.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. (Ed.). *Pathology of domestic animals*. San Diego, 4^a ed.: Academic Press, 1993. v. 2. p. 1-30.
- BARROS, C.S.L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I.S.; LEMOS, R.A.A. Doenças causadas por vírus e príon. In: IBID (Eds). *Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil*. São Paulo: Coleção Valee, 2006. p. 21-47.
- BARROS, S.S.; SANTOS, M.N.; BARROS, C.S.L. Surto de febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 3, p. 81-86, 1983.
- BATISTA, H.B.C.R.; FRANCO, A.C.; ROEHE, P.M. Raiva: uma breve revisão. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, n.2, p. 125-144, 2007.
- BAXTER, S.I.; POW, I.; BRIDGEN, A.; REID, H.W. PCR detection of the sheep-associated agent of malignant catarrhal fever. **Archives of Virology**. v. 132, p. 145-159, 1993.

- BELKNAP, E.B.; COLLINS, J.K.; AYERS, V.K. & SCHULTHEISS, P.C. Experimental infection of neonatal calves with neurovirulent bovine herpesvirus type 1.3. **Veterinary Pathology**, v. 31, p. 358-365, 1994.
- BELTRÃO, N.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; SILVA, A.M.; ROEHE, P.M. & IRIGOYEN, L.F. Infecção e enfermidade neurológica pelo herpesvírus bovino tipo 5 (BHV- 5): coelhos como modelo experimental. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, p.144-150, 2000.
- BIENVENU, J.G.; MORIN, M.; FORGET, S. Poultry litter associated botulism (type C) in cattle. **Canadian Veterinary Journal**. v. 31, p. 111, 1990.
- BRAGA, J.F.V.; SOUZA, F.A.L.; FRANKLIN, F.L.A.A.; BESERRA, E.E.A.; BARRETO, F.M.; ARAÚJO NETO, J.C.; COSTA, F.A.L.; SILVA, S.M.M.S. Surto de raiva em bovinos no estado do Piauí, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**. v. 7, n. 2, p. 176-179, 2013.
- CARINI, A. Sur une grande epizootia de rage. **Annales de L'Institut Pasteur**. v. 25, p. 843-846, 1911.
- CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. *Patologia Veterinária Especial de Thomson*. Porto Alegre, 2ª ed.: Editora Artmed, 1990.
- CARRILLO, B.J.; AMBROGÍ, A.; SCHUDEL, A.A.; VAZQUEZ, M.; DAHME, E. & POSPISCHIL, A. Meningoencephalitis caused by IBR virus in calves in Argentina. **Zbl. Vet. Med. B**, v.30, p.327-332, 1983
- CHMIELEWICZ, B.; GOLTZ, M.; EHLERS, B. Detection and multigenic characterization of a novel gammaherpesvirus in goats. **Virus Research**. v. 75, p. 87-94, 2001.
- CLAUS, M.P.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Herpesvírus bovino tipo 5 e meningoencefaliteherpética bovina 1. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 131-141, 2002.

CLAUS, M.P.; ALFIERI, A.F.; FOLGUERAS-FLATSCHART, A.V.; WOSIACKI, S.R.; MEDICI, K.C. & ALFIERI, A.A. Rapid detection and differentiation of bovine herpesvírus 1 and 5 glycoprotein C gene in clinical specimens by multiplex-PCR. **Journal Virological Methods**, v. 128, p.183-188, 2005.

COLODEL, M.E.; NAKAZATO, L.; WEIBLEN, R.; MELLO, R.M.; SILVA, R. P.; SOUZA, M.A., OLIVEIRA, J.A. & CARON, L. Meningoencefalite necrosante em bovinos causada por herpesvírus bovino no estado de Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32 (2): p.293-298, 2002.

CÔRTEZ, V.A.; PAIM, G.V.; OLIVEIRA, M.C.G. Diagnóstico da raiva canina. I. Comparação entre amostras de saliva e encéfalo. **Revista de Saúde Pública**. v. 13, n. 4, p. 353-356, 1979.

COULTER, L.J.; WRIGHT, H.; REID, H.W. Molecular genomic characterization of the viruses of malignant catarrhal fever. **Journal of Comparative Pathology**. v. 124, p. 2-19, 2001.

CRAWFORD, T.B.; LI, H.; O'TOOLE, D. Diagnosis of malignant catarrhal fever by PCR using formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 11, p. 111-116, 1999.

DE PAULA, R.R.; SOUZA, M.A.; COLODEL, E.M.; HÜBNER, S.O.; BRUM, K.B.; JORGE, K.B.C. & DAMASCENO, A.D. Meningoencefalite causada pelo BHV-5 em um bovino no Estado de Goiás. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57 (Supl.1), p. 2, 2005

DEL MÉDICO, M.P.; PUNTEL, M.; ZAMORANO, P.I.; SADIR, A.M. & ROMERA, S.A. BHV-1 vaccine induces cross-protection against BHV-5 disease in cattle. **Research in Veterinary Science**, v.81, p.327-334, 2006.

- DELHON, G.; MORAES, M.P.; LU, Z.; AFONSO, C.L.; FLORES, E.F.; WEIBLEN R.; KUTISH, G.F. & ROCK, D.L. Genome of bovine herpesvirus 5. **Journal Virology**, v.77, p.10339-10347, 2003.
- DIAS, L.E.; MAISONNAVE, J.; GUARINO, H.; PAULLIER, C.; PERDOMO, E.; FIGARES, A. & IZAGUIRRE, R. Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) descricao de um quadro clinico em terneros de tambo. In: Anais III Congr. Nac. Veterinária, Montevideo. Sociedad de Medicina Veterinaria Del Uruguay, Montevideo, p.521-530, 1982.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H. Ocorrência de coriza gangrenosa em bovinos no município de Serra Negra do Norte, Rio Grande do Norte. **Arquivos do Instituto Biológico Animal**. Rio de Janeiro, v. 2, p. 65-82, 1959.
- DRIEMEIER, D.; BRITO, M.F.; TRAVESO, S.D.; CATTANI, C.; CRUZ, C.E.F. Outbreak of malignant catarrhal fever in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) in Brazil. **Veterinary Record**. v. 151, p. 271-272, 2002.
- DUTRA, I.S; DÖBEREINER, J.; ROSA, I.V.; SOUZA, L.A.A.; NONATO, M. Surtos de botulismo em bovinos associados à ingestão de água contaminada. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 21, n. 2, p. 43-48, 2001.
- DUTRA, I.S; DÖBEREINER, J.; SOUZA, L.A.A. Botulismo em bovinos de corte e leite alimentados com cama de frango. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 25, n. 2, p. 115-119, 2005.
- ELIAS, F.; SCHILD, A.L. & RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e encefalomalacia por Herpes vírus bovino-5 (BHV-5): distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24 (3): p.123-131, 2004.

ELIAS, F.; SCHILD, A.L. & RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e encefalomalacia por Herpes vírus bovino-5 (BHV-5): distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24 (3): p.123-131, 2004.

FERNANDES, C.G. Abscessos do sistema nervoso central. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. (Ed.) *Doenças de ruminantes e eqüinos*. São Paulo, 2ª ed.: Varela Editora, 2001. v. 1, p. 166-172.

FIGUEIREDO, L.J.C.; CASTELO BRANCO, M.B.; OLIVEIRA, A.C. Aspectos clínicos e epidemiológicos da febre catarral maligna. *Anais 16º Congresso Mundial de Buiatra*. Salvador, p. 666-671, 1990.

GALIZA, G.J.N.; SILVA, M.L.C.R.; DANTAS, A.F.M.; SIMÕES, S.V.D. & RIET-CORREA F. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30(3): p. 267-276, 2010.

GARMATZ, S.L.; IRIGOYEN, L.F.; RECH, R.R.; BROWN, C.C.; ZHANG, J.; BARROS, C.S.L. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: transmissão experimental para bovinos e caracterização do agente etiológico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 24, p. 93-106, 2004.

GIBBS, E.P.J.; RWEYEMANN, M.M. Bovine herpesviruses. Part I. Bovine herpesvirus 1. **Veterinary Bulletin**, v.47, n.5, p.317-343, 1977.

GOMES, L.I.; ROCHA, M.A.; COSTA, E.A.; LOBATO, Z.I.P.; MENDES, L.C.N.; BORGES, A.S.; LEITE, R.C. & BARBOSA-STANCIOLI, E.F. Detecção de herpesvírus bovino-5 (BoHV-5) em bovinos do sudeste brasileiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54 (2): p.217-220, 2002.

HEADLEY, S.A.; SOUSA, I.K.F.; MINERVINO, A.H.H.; BARROS, I.O.; BARRÊTO JÚNIOR, R.A.; ALFIERI, A.F.; ORTOLANI, E.L.; ALFIERI, A.A. Molecular confirmation of ovine herpesvirus 2-induced malignant catarrhal fever lesions in cattle from Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 32, n. 12, p. 1213-1218, 2012.

HEINEMANN, M.B.; FERNANDES-MATIOLI, F.M.C.; CORTEZ, A.; SOARES, R.M.; SAKAMOTO, S.M.; BERNADI, F.; ITO, F.H.; MADEIRA, A.M.B.N.; RITCHZENHAIN, L.J. Genealogical analyses of rabies virus strains from Brazil based on N genes alleles. **Epidemiology and Infection**. v. 128, p. 503-511, 2002.

ITO, M.; ARAI, T.A.; ITOU, T.; SAKAI, T.; ITO, F.H.; TAKASAKI, T., KURANE, I. Genetic characterization and geographic distribution of rabies virus isolates in Brazil: Identification of two reservoirs, dog and vampire bats. **Virology**. v. 284, p. 214-222, 2001.

KARAM, F.S.C.; SOARES, M.P.; HARAGUCHI, M.; RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C.; JARENKOW, J.A. 2004. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 24, n. 4, p. 191-198, 2004.

KELCH, W.J.; KERR, L. A.; PRINGLE, J. K.; ROHRBACH, B. W.; WHITLOCK, R. H. Fatal *Clostridium botulinum* toxicosis in eleven Holstein cattle fed round bale barley haylage. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 12, n. 5, p. 453-455, 2000.

KOBAYASHI, Y.; OGAWA, A.; SATO, G.; SATO, T.; ITOU, T.; SAMARA, S.I.; CARVALHO, A.A.B.; NOCITI, D.P.; ITOU, F.H.; SAKAI, T. Geographical distribution of vampire bat-related cattle rabies in Brazil. **The Journal of Veterinary Medical Science**. v. 68, n. 10, p. 1097-1100, 2006.

LEMOS R.A.A.; RECH R.R.; GUIMARÃES E.B.; KADRI A.; DUTRA I.S. Febre catarral maligna em bovinos do Mato Grosso de Sul e de São Paulo. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 35, p. 932-934, 2005.

LEMOS, R.A.A. *Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões Centro-oeste e Sudeste do Brasil*. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, São Paulo, 2005. 150 p.

LEMOS, R.A.A.; NAKAZATO, L. Polioencefalomalacia. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. (Ed.) *Doenças de Ruminantes e Eqüinos*. São Paulo, 2ª ed.: Varela Editora, 2001. v. 2, p. 547-553.

LI, H.; DYER, N.; KELLER, J.; CRAWFORD, T.B. Newly recognized herpesvirus causing malignant catarrhal fever in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Journal of Clinical Microbiology**. v. 38, p. 1313-1318, 2000.

LI, H.; GAILBREATH, K.; BENDER, L.C.; WEST, K.; KELLER, J.; CRAWFORD, T.B. Evidence of three new members of malignant catarrhal fever virus group in muskox (*Ovibos moschautus*), Nubian ibex (*Capra nubiana*) and gemsbock (*Oryx gazella*). **The Journal Wildlife Disease**. v. 39. p. 875-880, 2003.

LI, H.; KELLER, J.; KNOWLES, D.P.; CRAWFORD, T.B. Recognition of another member of the malignant catarrhal fever virus group: an endemic gammaherpesvirus in domestic goats. **Journal of General Virology**. v. 82, p. 227-232, 2001.

LI, H.; TAUS, N.S.; LEWIS, G.S.; KIM, O.; TRAUL, D.L.; CRAWFORD, T.B. Shedding of ovine herpesvirus 2 in sheep nasal secretions: the predominant mode of transmission. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 42, p. 5558-5564, 2004.

- LIMA, E.F.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R.S.; GOMES, A.A.B.; LIMA, F.S. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros da região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 25, n. 4, p. 250-264, 2005.
- LOBATO, F.C.F.; SALVARANI, F.M.; SILVA, R.O.S.; SOUZA, A.M.; LIMA, C.G.R.D.; PIRES, P.S.; ASSIS, R.A.; AZEVEDO, E.O. Botulismo em ruminantes causado pela ingestão de cama-de-frango. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1176-1178, 2008.
- LOKEN, T.; ALEKSANDERSEN, M.; REID, H.; POW, I. Malignant catarrhal fever caused by ovine herpesvirus-2 in pigs in Norway. **Veterinary Record**. v. 143, p. 464-467, 1998.
- LORETTI, A.P.; ILHA, M.R.S.; RIET-CORREA, G.; DRIEMEIER, D.; COLODEL, E.M.; BARROS, C.S.L. Síndrome do abscesso pituitário em bezerros associada ao uso de tabuleta nasal para desmame interrompido. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 23, n. 1, p. 39-46, 2003.
- MACÊDO, J.T.S.A.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D.; DANTAS, A.F.M.; NOBRE, V.M.T. Febre catarral maligna em bovinos na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 27, p. 277-281, 2007.
- MACHADO, G.F.; SILVA, L.H.Q.; NUNES, C.M. Detecção de antígenos do vírus da raiva em encéfalo de cão mantido em formol durante longo período. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 99, n. 550, p. 89-92, 2004.
- MARQUES, L.C.; ALESSI, A.C.; BECHARA, G.H.; TOMAZ, B.V.; MARQUES, J.A.; GUERRA, L. Surto de febre catarral maligna em bovinos no estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 38, p. 719-729, 1986.

MARTINEZ-BURNES, J.; LÓPEZ, A.; MEDELIN, J.; HAINES, D.; LOZA, E.; MARTINEZ, M. An outbreak of vampire bat-transmitted rabies in cattle in northeastern Mexico. **The Canadian Veterinary Journal**. v. 38, p. 175-177, 1997.

MENDONÇA, F.S.; DÓRIA, R.G.S.; SCHEIN, F.B.; FREITAS, S.H.; NAKAZATO, L.; BOABAID, F.M.; PAULA, D.A.J.; DUTRA, V.; COLODEL, E.M. Febre catarral maligna em bovinos no Estado de Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, p. 155-160, 2008.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. *Análise de indicadores epidemiológicos da raiva dos herbívoros no Brasil (período 2006/2012)*. Coordenação da raiva dos herbívoros e das encefalopatias espongiformes transmissíveis – CRHE. 2013. 37 p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. *Controle da raiva dos herbívoros: manual técnico 2009*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 124 p. 18 cm.

MÜLLER-DOBLIES, U.U.; LI, H.; HAUSER, B.; ADLER, H.; ACKERMANN, M. Field validation of laboratory tests for clinical diagnosis of sheep-associated malignant catarrhal fever. **Journal Clinical Microbiology**. v. 36, p. 2970-2972, 1998.

O'TOOLE, D.; LI, H.; ROBERTS, S.; ROVNAK, J.; DEMARTINI, J.C.; CAVENDER, J.; WILLIAMS, B.; CRAWFORD, T.B. Chronic generalized obliterative arteriopathy in cattle: a sequel to sheep-associated malignant catarrhal fever. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 7, p. 108-121, 1995.

OLDONI, I.; WEIBLEN, R.; INKELMANN, M.A. & FLORES, E.F. Production and characterization of monoclonal antibodies to a Brazilian bovine herpesvirus type 5. **Brazilian Journal Medicine and Biological Research**, v.37, p.213-221, 2004.

OLIVEIRA, J.S.; ALBUQUERQUE, R.F.; AGUIAR FILHO, C.R.; ARRUDA, L.P.; COLODEL, E.M.; ROCHA, B.P.; EVÊNCIO-NETO, J.; MENDONÇA, F.S. . Meningoencefalite necrosante em bovinos associada ao herpesvírus bovino-5 em Pernambuco - Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 42, p. 43, 2014.

PATRÍCIO, M.A.C.; RICHARTZ, R.R.T.B.; WILLIG, F.H.; SPONCHIADO, D.; DRITTICH, R.L.; BARROS FILHO, I.R. Prevalencia da raiva em bovinos, ovinos e caprinos no ano 2007 no estado do Paraná. *Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria*. Belo Horizonte, Minas Gerais, 2009.

PEDROSO, P.M.O.; COLODEL, E.M.; PESCADOR, C.A.; ARRUDA, L.P.; DRIEMEIER, D. Aspectos clínicos e patológicos em bovinos afetados por raiva com especial referência ao mapeamento do antígeno rábico por imuno-histoquímica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 29, n. 11, p. 899-904, 2009.

PEIXOTO, Z.M.P.; CUNHA, E.M.S.; SACRAMENTO, D.R.V.; CONCEIÇÃO, M.; SOUZA, A.M.; da SILVA, L.H.Q.; GERMANO, P.L.; KROEFF, S.S.; KOTAIT, Q. Rabies laboratory diagnosis peculiar features of sample of equine origin. In: **Microbiology**. v. 31, p. 72-75, 2000.

PLOWRIGHT, W. Malignant catarrhal fever virus. In: MOREIN, B.; DINTER, Z. (Ed.). *Virus Infections of Ruminants*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p. 123-150, 1990.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. *Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. London, 9ª ed.: W.B. Saunders, 2000. p. 501-550.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W; BLOOD, D.C. **Clínica Veterinária**. Rio de Janeiro, 9ª ed: Guanabara Koogan, 2002. cap. 35, p. 1633-1638.

RECH, R.R.; SCHILD, A.L.; DRIEMEIER, D.; GARMATZ, S.L.; OLIVEIRA, F.N.; RIET-CORREA, F.; BARROS, C.S.L. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, p. 97-105, 2005.

REIS, M.C.; COSTA, J.N.; PEIXOTO, A.P.C.; FIGUEIREDO, L.J.C.; MENEZES, R.V.; FERREIRA, M.M.; SÁ, J.E.U. Aspectos clínicos e epidemiológicos da raiva bovina apresentados na casuística da Clínica de Bovinos (Oliveira dos Campinhos, Santo Amaro, Bahia), Universidade Federal da Bahia, durante o período de janeiro de 1990 a dezembro de 1999 (Relato de Caso). **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**. Salvador, 2003. v. 4, n. 1, p. 12-17.

RIET-CORREA, F. Suplementação mineral em ruminantes. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R. (Eds). *Doenças de ruminantes e eqüídeos*. Santa Maria, 3ª ed.: Pallotti, 2007a. v. 2, p. 263- 280.

RIET-CORREA, F.; TABOSA, I.M.; AZEVEDO, E.O.; MEDEIROS, R.M.T.; SIMÕES, S.V.D.; DANTAS, A.F.M.; ALVES, C.J.; NOBRE, V.M.T.; ATHAYDE, A.C.R.; GOMES, A.A.; LIMA, E.F. Doenças dos Ruminantes e Equinos no Semi-Árido da Paraíba. **Semi-Árido em Foco**. v. 1, n. 1, p. 58-60, 2003.

RIET-CORREA, F.; VIDOR, T.; SCHILD, A.L. & MÉNDEZ, M.C. Meningoencefalite e necrose do córtex cerebral em bovinos por herpesvírus bovino-1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 9, p.13-16, 1989.

RIET-CORREA, G.; DUARTE, M.D.; BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; CERQUEIRA, V.D.; BRITO, M.F. & RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e polioencefalomalacia causada por Herpesvírus bovino-5 no Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, p. 44-46, 2006.

RIET-CORREA, G.; DUARTE, M.D.; BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; CERQUEIRA, V.D.; BRITO, M.F.; RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e polioencefalomalacia causadas por Herpesvírus bovino-5 no estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 26, n. 1, p. 44-46, 2006.

RISSI, D.R. *Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 (BoHV-5)*. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2006. 134 p.

RISSI, D.R.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L. Doenças neurológicas de ovinos na região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 30, n. 3, p. 222-228, 2010.

RISSI, D.R.; OLIVEIRA, F.N.; RECH, R.R.; PIEREZAN, F.; LEMOS, R.A.A. & BARROS, C.S.L. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.26, p.123-132, 2006.

RISSI, D.R.; OLIVEIRA, F.N.; RECH, R.R.; PIEREZAN, F.; LEMOS, R.A.A. & BARROS, C.S.L. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.26, p.123-132, 2006.

RODRIGUEZ, L.L.; ROEHE P.M.; BATISTA H.; KURATH G. Rhabdoviridae. In: FLORES, E.F. (Ed.). **Virologia Veterinária**. Santa Maria: UFSM, 2007. cap. 27. p. 691-718.

ROEHE, P.M.; SILVA, T.C.; NARDI, N.B.; OLIVEIRA, L.G. & ROSA, J.C.A. Diferenciação entre o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (BHV-1) e o herpesvírus da encefalite bovina (BHV-5) com anticorpos monoclonais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 17, p.41-44, 1997.

ROEHE, P.M.; TEIXEIRA, M.F.B. & ALMEIDA, R.S. Situação do BHV-1 e BHV-5 no Brasil, p.89-96. In: Anais Simpósio Internacional sobre Herpesvírus Bovino (Tipo 1 e 5) e Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV), Santa Maria. Pallotti, Santa Maria, RS, 1998.

ROIZMAN, B. et al. The family *herpesviridae*: An up date. **Archives of Virology**, v.28, n.1, p.1-7, 1992.

ROIZMAN, B. et al. The family *herpesviridae*: An up date. **Archives of Virology**, v.28, n.1, p.1-7, 1992.

SALVADOR, S.C.; LEMOS, R.A.A.; RIET-CORREA, F.; ROEHE, P.M.; OSÓRIO, A.L.A.R. Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 18, n. 2, p. 76-83, 1998.

SAMPAIO, F.A.; SAMPAIO, A.A.; DACORSO FILHO, P. Surto de febre catarral maligna em Campos, RJ. *8º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Brasília, p. 275, 1972.

SANCHES, A.W.D.; LANGOHR, I.M.; STIGGER, A.L.; BARROS, C.S.L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 20, n. 3, p. 113-118, 2000.

SANT'ANA, F.J.F.; RISSI, D.R.; LUCENA, R.B.; LEMOS, R.A.A.; NOGUEIRA, A.P.A.; BARROS, C.S.L. Polioencefalomalacia em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e

distribuição das lesões no encéfalo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 29, n. 7, p. 487-497, 2009.

SILVA, A.M.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; BOTTON, S.A.; IRIGOYEN, L.F.; ROEHE, P.M.; BRUM, M.C.S. & CANTO, M.C. Infecção aguda e latente em ovinos inoculados com herpesvírus bovino 5 (BHV-5). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.18, p. 99-106, 1998.

SILVA, M.L.C.R.; RIET-CORREA, F.; GALIZA, G.J.N.; AZEVEDO, S.S.; AFONSO, J.A.B.; GOMES, A.A.B. Distribuição do vírus rábico no sistema nervoso central em ruminantes naturalmente infectados. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v. 30, n. 11, p. 940-944, 2010.

SILVA, S.M.M.S.; CAVALCANTE, H.S.; VIANA, G.E.N.; BARBOSA, A.A.; SILVA, S.A.V. Surto de febre catarral maligna. *Anais 9º Enapave*, Pirassununga, p. 70, 2001.

SIMON, S.; LI, H.; O'TOOLE, D.; CRAWFORD, T.B.; OAKS, J.L. The vascular lesions of a cow and bison with sheep-associated malignant catarrhal fever contain ovine herpesvirus 2-infected CD8(+) T lymphocytes. **Journal of General Virology**. v. 84, p. 2009-2013, 2003.

SMART, J.L.; ROBERTS, T.A. Bovine botulism. **Veterinary Record**. v. 101, p. 201-202, 1997.

SMITH, M.C.; SHERMAN, D.M. *Goat Medicine*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. p. 535-540.

SOUZA, M.I.; AFONSO, J.A.B.; COSTA, N.A.; MENDONÇA, C.L.; TOKARNIA, C.H.; PEREIRA, A.L.L.; ROCHA FILHO, J.S.; ESCRIVÃO, S.C.; DANTAS, F.R. 2003. Ocorrência de quatro casos de febre catarral maligna na clínica de bovinos, Campus Garanhuns, PE. *XI Congresso Latino-Americano de Buiatria*, Salvador, p. 40, 2003.

SOUZA, V.F.; MELO, S.V.; ESTEVES, P.A.; SCHMIDT, C.S.; GONÇALVES, D.A.; SCHAEFER, R.; SILVA, T.C.; ALMEIDA, R.S.; VICENTINI, F.; FRANCO, A.C.; OLIVEIRA, E.A.; SPILKI, F.R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.F.; LEMOS, R.A.; ALFIERI, A.A.; PITUCO, E.M. & ROEHE, P.M. Caracterização de herpesvírus bovinos tipos 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5) com anticorpos monoclonais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.22, p.13-18, 2002.

STRAUB, O.C. Problems concerning the taxonomy of the “moval type” bovine herpesvirus. **Intervirology**, v.28, n.1, p.1-7, 1982.

STUDDERT, M.J. Bovine encephalitis herpesvirus. **Veterinary Record**, v.125, p.584, 1989.

SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J.F.; LAHUNTA, A. *Veterinary Neuropathology*. Baltimore: Mosby, 1995. p. 95-99.

SUREAU, P.; RAVISSE, P.; ROLLIN, P.E. Rabies diagnosis by animal inoculation, identification of Negri bodies, or Elisa. In: BAER, G.M. (Ed.). *The natural history of rabies*. Boca Raton: CRC, 1991. p. 203-217.

SWANEPOEL, R. Rabies. In: COETZER, J.A.W.; TOMSON, F.R.; TUSTIN, R.C. *Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa*. Cape Town: Oxford University, 1994. v.1, cap. 48, p. 493-552.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C.F.C. Estudo sobre o "mal dos chifres" em gado do Nordeste e Norte do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico Animal**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 39-64, 1959.

TOKARNIA, C.H.; LANGENEGGER, J.; LANGENEGGER, C.H.; CARVALHO, E.V. Botulismo em bovinos no Piauí, Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 5, p. 435-472, 1970.

TORRES, S. A "oca" ou "mal do chifre" não é uma trypanossomíase. **Chácaras e Quintais**. v. 58, p. 725-726, 1938.

TORRES, S. Oca, mal do chifre, ou coriza gangrenosa dos bovinos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**. v. 1, p. 144-159, 1924.

VOGEL, F.S.F.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R. & KUNRATH, C.F. Atividade neutralizante anti-herpesvírus bovino tipos 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5) no soro de bovinos imunizados com vacinas contra o BHV-1. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p.881- 883, 2002.

WADA, M.Y.; ROCHA, S.M.; MAIA-ELKHOURY. Situação da raiva no Brasil, 2000 a 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. Brasília, v. 20, n. 4, p. 509-518, 2011.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS ASV - 15

**Acta Scientiae Veterinariae.
2014**

OBJECTIVES: *Acta Scientiae Veterinariae* (formerly Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS) [vol. 1 (1973) - vol. 29 (2001)] is dedicated to publish retrospective and prospective scientific studies on Veterinary Medicine addressing medical, clinical, pathological, epidemiological, surgical, immunological, diagnostic and therapeutic subjects on Veterinary Medicine, apart from original papers on physiology, biochemistry, immunohistochemistry, genetics, molecular biology and cell biology applied to the domains of Veterinary Medicine and of its interface with Public Health.

METHODOLOGY OF MANUSCRIPT EVALUATION

Manuscripts are initially to be sent for a preliminary assessment by the Editorial

Board. Manuscripts that do not meet the specific publication standards defined by ASV will not be accepted. **An abstract is**

compulsory, with a total of 3,400 characters minimum or 3,900 characters maximum, including spaces and excluding keywords. The abstract follows a structured mode and should be written in three sections: *Background* (a short section with 700 characters maximum, including spaces) stating importance and the study's objectives; *Materials, Methods & Results*, and *Discussion*.

Note: Author/authors (Manuscripts with 10 authors or more will not be accepted for publication in ASV). Who recently have published an article in ASV may submit another manuscript for review **ONLY** after the Editorial Board has issued a decision on the publication/rejection of the first article. **One or more authors of one same manuscript may publish two articles a year in ASV (review and case reports excluded).**

PRELIMINARY CONSIDERATIONS

Authors are expected to inform the Editorial Board of the presence of material that has been previously published in the submitted manuscript, in which case the previously

published paper should be included as a reference therein.

Authors are fully responsible for concepts and opinions presented and discussed in all papers submitted to *Acta Scientiae Veterinariae*. All papers submitted to *Acta Scientiae Veterinariae* are to be accompanied by a letter signed by all authors as a scanned document and sent by e-mail, appointing one corresponding author. The Editorial Rules of *Acta Scientiae Veterinariae* have been defined in accordance with the instructions adopted by several journals in the field of Biomedicine. Please take extra care to ensure that your submission complies with the following style and ethical guidelines.

Authorship contributions: All people defined as author and co-authors should be qualified as such. Each author is expected to take legal responsibility for the content of the submitted paper. Authorship is acknowledged based on the substantial contribution related to the following aspects: (i) Paper design and project or data analysis and evaluation; (ii) writing or critical comments that are relevant from the intellectual standpoint; and (iii) approval of the final version to be published. The members of the research team that prepared the submitted paper and who do not fit into

these criteria may be listed in the Acknowledgements section.

Note: Manuscripts containing information related to the experimental use of animals must clearly state that the studies complied with relevant professional and institutional animal welfare policies. Authors are required to inform an approval statement (process number) by an ethics committee of the institution in which the research was carried (Ethical Approval).

Summary of paper presentation requirements:

- All papers must be typed in Times New Roman font size 12 and double spaced throughout (including figure legends and references). Margins should be 2.5 cm;
- Line numbers must be exhibited on the left margin. All lines must be numbered;
- Cover-Page that includes the full title (with no more than 60 words), name(s) and affiliation(s) of all author(s), the name, telephone/ fax numbers and email address of the designated corresponding author (Correspondence), ABSTRACT (three sections) and a list of up to **six** keywords.
- Paper sections should be ordered as follows: Text (Do not use, sentences with “we...” or “our...”); subdivided into sections = Introduction (with maximum of 1,700 characters including spaces); Materials and Methods; Results; Discussion and Conclusion(s).
Sources and Manufacturers (when necessary); *Funding* (optional); *Acknowledgements* (optional); *Ethical*

Approval (when necessary); *Declaration of Interest* and References.

- Supply electronic files of all figures (**Do not embed the figure in the text**). The figures must be presented in a size larger than that of the final montage for publication (which is at least 8 cm and at most 17 cm in width).
- Permission to reproduce previously published material must be included.
- A term of copyright transfer must be included in all papers.

NOTE: Submit the material only to: actascivet@ufrgs.br Papers are published in order of approval for publication.

TYPES OF PAPERS

REVIEW PAPER: Review articles are requested by the Editorial Board or examined for publication through an author's own initiative. The authors of a review article should be **experts on the subject of the review**, as proved by papers published and by citations of their own published papers in the submitted review.

The authors of a review article have to send a preliminary proposal for the review. This proposal has to contain: Abstract (Background; Review and Discussion), a list of up to six keywords, and a sequential and numbered description of the topics that are to be addressed in the review, which should be prepared based on the maximum

limit of 120 references. The standard format available online should be observed.

It is essential that the authors of a review article are cited as authors of at least 10 other articles addressing the same subject as the review article submitted (**five** of which have to have been published in journals with impact factor 1 or higher, and the other articles in journals with minimum impact factor of 0.5). In the reference list, authors who have written or co-written an article cited in the review article submitted are required to place **the impact factor of the respective journal in bold, after the number of pages.**

RESEARCH ARTICLE: An Original Article should present a previously unpublished clear hypothesis and data (according to an appropriate experimental design, when such is the case). Writing style should be concise but clear enough to afford to reproduce the experimental methodology as described. The Discussion section should be understandable considering the general context of the subject researched, affording the means to reach conclusions based on the data obtained or observed. An Original Paper should not normally exceed 15 pages in length nor contain over 60 references.

PREPARATION OF MANUSCRIPTS

1. **Abstract:** The Abstract should be concisely written in the past tense, in accordance to the character limits (3,400 minimum - 3,900 maximum, including spaces), emphasizing the importance of the research subject, the objectives of the paper and containing a brief description of the experiment, the results obtained, specific data and the respective statistical meaning (if possible) and the main conclusions. The abstract should condense all sections of the paper. Never start with the objectives of the paper. The abstract should be followed by up to 6 keywords.

2. **Introduction:** This section should be briefly, clearly and objectively written, containing information that explains the importance of the paper. References cited in the introduction should address the specific research topic. The introduction should always end with the objective(s) of the paper, and should not exceed the limit maximum of 1,700 character including spaces.

Citations of References in the text: In the text, as a rule references are usually represented by Arabic numerals in square brackets, corresponding to the respective authors arranged and numbered in alphabetical order. Examples of reference representations in the text are: [2], [7,9,16], [23-27,31,33,45-48]. However, in situations where the mention of authors' names is essential (in a few cases), please observe the following suggestions: "The first description was made by Author & Author [3]..."; "Author & Author [32] started the ..."; "In 1958, Author *et al.* [18]...".

Unpublished data and personal communications should be represented as: (Author, personal communication, year) and (Author & Author, unpublished data). E-mail or mail addresses of authors of personal communications and of unpublished data should be informed before the References section.

3. **Materials and Methods:** This section should present all information that affords the reproducibility of the experimental procedure. Wellknown methods and techniques should only be mentioned, while new methodologies should be described in detail. Whenever appropriate, chemicals and equipment are to be cited using superscript numbers, whose manufacturers are to be presented in a subsection called "Sources and Manufacturers". When animals are used in the experiments, the ethical conduct recommended by the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals should be observed, according to the Council for International Organization of Medical Sciences (executive Secretary C.I.O.M.S., c/o W.H.O., Via Appia, CH, 1211, Geneva 27, Switzerland).

Note on the statistical treatment of data:

Whenever possible, authors should quantify and present the results using the appropriate statistical measurements, like confidence intervals, for instance. Authors are required to avoid resorting solely to statistical hypotheses, such as the use of *P* values, since this approach leaves out important

quantitative information. The choice of the individuals that became the object of the research should be explained, the method should be detailed. The possible complications related to the treatment should be given. Computer softwares used should be mentioned.

4. Results (separate from the Discussion section): This section should provide clear and concise information only about the *relevant observations* that, depending on the nature of the research paper, should present a statistical analysis. The content should be informative instead of interpretative and, if necessary, tables, figures or other self-explanatory illustrations are to be provided. Legends should contain enough details to afford the full comprehension of figures and tables without having to resort to the text. Complex results should be expressed in graphics instead of tables that contain excessive minor details. The results should be presented in an orderly sequence, and following the sequence of the Methods section upon which the results are based. It is important to carefully plan the tables and figures to ensure that their sequencing is compatible with the text. The text should complement the figures or tables, not repeat the same information.

Tables: Are to be numbered using Arabic numerals. **No table is to be sent embedded in the main text file.** Each table should be presented in a separate file. All tables should be cited in the text in numerical ascending order. An approximate position of each table should be presented on the

margin of the respective page. Tables should be self-explanatory and contain a descriptive title (place and date are to be included, when necessary). Details concerning table data should be indicated by letters or symbols, which are to be listed in an orderly manner and explained as a table footnote. With a view to avoiding long tables containing a large number of dispersed data of little importance, authors are required to consider the presentation of only the most important data in tables. Statistical measurements like confidence intervals, standard deviation etc. should be identified.

Figures: Color (CMYK) or gray scale figures have to be sent as digital 300-dpi TIFF files saved on a CD to be sent to ASV, irrespective of digital software. **No image is to be sent embedded in the main text file.** Photographs of microscopy images should contain a scale bar embedded. Symbols, arrows and letters used in photomicrography should be inserted so as to afford clear contrast against the image background, and a scale bar should be provided according to the magnification informed in the figure legend. Digital photographs should be taken using a camera with maximum resolution

(minimum 5' megapixels). Images should never be sent as JPG or GIF files.

Measurement units: All measurements should be expressed as IS (International System) units. Temperature is expressed as Celsius degrees, blood pressure as millimeters of mercury. All hematological and biochemical values should be presented as decimal metric system units, according to the International Measurement System (IS). The Editorial Board may request the authors to use alternative units that do not belong to the IS to express values, before publication.

Abbreviations: Authors should avoid using abbreviations. When these are employed, authors are required to use standard abbreviations which should be defined as of the first citation of the term (the exception are measurement units). Considering Latin species names, the genus portion of the name should be abbreviated after the first citation (except in the beginning of a sentence). Abbreviations should not be used in the title and, if possible, authors are not to use abbreviations in the Abstract.

5. **Discussion:** The content of the Discussion section should be interpretative. The hypotheses and suppositions formulated based on the data obtained in the paper should be related to the current knowledge on the topic published in other studies. The Discussion should cite only the essential references. Authors are required to

discuss the implications of the data obtained and the respective limitations, also mentioning the representativeness of such information in the conduction of future research.

6. **Conclusion(s):** The conclusions of the paper should be linked to the respective objectives. They should be strictly based on the results obtained in the research and on facts that are fully backed by these results. Authors are specifically required to refrain from commenting on economic benefits and expenses, unless the manuscript includes economic analysis and information.

7. **Manufacturers:** These notes are used to inform the origin of commercial products by citing manufacturer, city and country. These notes should be numbered consecutively as superscript numerals and appear after the Conclusion's section.

8. **Funding.** Authors are required to remember that financial support and grants are to be mentioned in this section.

9. **Acknowledgements.** Should be brief and address the significant technical cooperation and orientation by colleagues in the conduction of the study.

10. **Ethical approval.** Authors are required to inform an approval statement (process number) by an ethics committee of the institution in which the research was carried.

11. **Declaration of interest.** Conflict-of-interest may be personal, commercial, political, academic or financial. It is particularly important for authors to provide a full and complete disclosure of any financial relationship with a commercial organisation that may have an interest in the contents of the submitted manuscript..

12. **References:** Papers submitted to *Acta Scientiae Veterinariae* shall not be

reviewed when references are incomplete or not in accordance with the journal's standards. Reference research papers should be numbered in **alphabetical order**, as follows: Number - Surname (the first letter in capitals) followed by initials in capital letters followed by a dot (names of authors should be separated by commas, except the last author's name, which should be preceded by an ampersand) - Year of publication - Title of the paper - Full name of the journal of publication (in italic type, with no abbreviation) - volume (issue): pages-pages. **Examples of references**

• **Papers**

→ WITH TWO AUTHORS:

Canto S.P. & Mello J.R. 2002. Avaliação de seis protocolos pré-anestésicos para anestesia epidural de caninos. *Acta Scientiae Veterinariae*. 30: 11-20.

→ WITH SEVERAL AUTHORS:

Silva A.M., Flores E.F., Weiblen R., Botton S.A., Irigoyen L.F., Roehe P.M., Brum M.C.S. & Canto M.C. 1998. Infecção aguda e latente em ovinos inoculados com o herpesvírus bovino tipo 5 (BHV-5). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 18: 99-106.

Note 1: References are numbered in alphabetical order considering the surnames of authors, instead of year of publication. For example:

7 Berlinguer F., Leoni G., Bogliolo L., Pintus P.P., Rosati I., Ledda S. & Naitana S. 2004.

8 Bernardi M.L., Cotinot C., Payen E. & Delouis C. 1996.

9 Bernardi M.L. & Delouis C. 1995.

10 Bernardi M.L. & Delouis C. 1996.

11 Bernardi M.L., Fléchon J-E. & Delouis C. 1996.

26 Martinez E.A., Vazquez J.M., Roca J., Lucas X., Gil M.A., Par-rilla J.L., Vazquez J.L. & Day B.N. 2002.

27 Martinez E.A., Vazquez J.M., Roca J., Lucas X., Gil M.A. & Vazquez J.L. 2001.

28 Martini R. L. 1998.

29 Matthijsa A., Hakze R., Potsma A. & Woelders H. 2000.

30 Matthijsa A., Harkema W., Engel B. & Woelders H. 2000.

68 Tervit H.R., Whittingham D.G. & Rowson L.E.A. 1972.

69 Thompson J.G. 1997.

70 Thompson J.G., Gardner D.K., Pugh P.A., McMillan W.H. & Tervit H.R. 1995.

71 Thompson J.G., Simpson A.C., Pugh P.A., Donnelly P.E. & Tervit H.R. 1990.

72 Thompson J.G., Simpson A.C., Pugh P.A. & Tervit H.R. 1992.

73 Thompson J.G., Simpson A.C., Pugh P.A., Wright R.W. & Tervit H.R. 1991.

Note 2: In the occurrence of references with identical sequence of authors' names, identical year of publication and different journals, these references should be listed according to the order of citation in the manuscript. If these reference papers have been published also by the same journal, consider the chronological order.

→ PUBLISHED IN A VOLUME SUPPLEMENT:

Pier A.C., Cabañes F.J., Chermette R., Ferreiro L., Guillot J., Jensen H.E. & Santurio J.M. 2000. Prominent animal mycoses from various regions of the world. *Medical Mycology*. 38 (Suppl 1): 47-58.

→ PAPER PUBLISHED IN JOURNAL NUMBER WITHOUT INDICATION OF VOLUME

Turan L., Wredmark T. & Fellander-Tsai I. 1995. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clinical of Orthopedic*. (320): 110-114.

→ PAPER PUBLISHED WITHOUT INDICATION OF JOURNAL NUMBER NOR VOLUME:

Schulman R.L. 2003. Insulin and other therapies for diabetes mellitus. *Veterinary Medicine*. April: 334-347.

→ PAPER PUBLISHED IN ELECTRONIC FORMAT:

Morse S.S. 1995. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerging Infectious Diseases*. 1: 7-15. [Fonte: <<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>>].

→ PAPER IN PRESS:

Teifke J.P., Driemeier D. & Kaden V. 2002. Arrest of meta-physal ossification

with classical swine fever. *Veterinary Record*. [in press].

→ PAPER PUBLISHED IN EVENT PROCEEDINGS:

[authors are required to always include number of event, city and country]

Bortolozzo F.P., Uemoto D.A., Wentz I. & Pozzobon M.C. 1999. Reproductive performance of gilts submitted to artificial insemination in different intervals before ovulation. In: *Proceedings of the 4th International Conference on Boar Semen Preservation* (Beltsville, U.S.A.). pp.239-240.

→ PAPER PUBLISHED IN COLLECTION OR SERIES: **Jellieff D.B. 1968.** Evaluación del estado de nutrición de la comunidad. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. [Serie de Monografías, 53], 201p.

• ABSTRACTS

[Authors are required to always include number of event, city and country]

→ PUBLISHED IN ANNALS:

Bisol J.F.W., Vieira M.J., Keller A., Mattos R.C. & Gregory R.M. 2000. Efeito da adição de antibióticos ao diluente de sêmen resfriado equino na

fertilidade de éguas. In: *Resumos do XII Salão de Iniciação Científica da UFRGS* (Porto Alegre, Brasil). p.125.

→ PUBLISHED IN ANNALS OF SEVERAL VOLUMES:

Barcellos D.E.S.N., Razia L.E. & Borowski S.M. 2002. Microagglutination test detecting antibodies against *Brachyspira pilosicoli* [paper 537]. In: *Proceedings of the 17th Congress of the International Pig Veterinary Society*. v.2. (Ames, U.S.A.). p.362.

→ PUBLISHED IN JOURNALS:

Reischak D., Costa U.M., Moojen V. & Ravazzolo A.P. 1999. Ovine synovial membrane cell line permissive to *in vitro* caprine lentivirus replication [abstract A-097]. In: *Virológica 99* (Curitiba, Brazil). *Virus Reviews & Research*. 4(1): 81-82.

•THESES / DISSERTATIONS

Machado M.L.S. 2001. Dermatófitos e leveduras isolados da pele de cães com dermatopatias diversas. 82f. Porto Alegre, RS. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

•BOOKS

[Authors are required to inform city and publishing company of the book]

→ CHAPTER IN BOOK WITH AUTHORSHIP:

Rodrigues J.L. 1982. Transferência Embrionária. In: Mies Filho A. (Ed). *Reprodução dos Animais e Inseminação Artificial*. 5.ed.

Porto Alegre: Sulina, pp.710-720.
[mencionar o Ed ou Eds]

→ REFERENCE TO A CHAPTER IN AN EDITED BOOK:

Solomon S.E. & Nascimento V.P. 1994. Hen's eggshell structure and function. In: *The Microbiology of the Avian Egg*. London: Chapman & Hall, pp.1-24.

→ CITATION IN A BOOK:

Bladh W. H. 1971. *Nuclear Medicine*. 2nd edn. New York: Mac Graw-Hill, 858p.

•TECHNICAL REPORTS / BULLETINS

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 1982. Censo Demográfico: Dados Distritais. Rio de Janeiro. v.1. IBGE, 20p.

World Health Organization. 1994. Expert Committee on Drug Dependence. Geneva. 29th Report . Geneva.

(WHO Technical Report Series, 856).120p.

•OTHER MODALITIES OF REFERENCES

▪ *Letter to the editor: Enzensberger W. & Fischer P.A. 1996.*

Metronome in Parkinson's disease. *Lancet*. 347: 1337. [Letter]

▪ *Editorial: Singer M.V., Gyr K. & Sarles H. 1985.* Revised classification of peritonitis. *Gastroenterology*. 89: 683-685. [Editorial]

▪ *Editorial: Cancer in South Africa/Editorial/. 1994.* *South Africa Medical Journal*. 84: 15. [Editorial]

▪ *Electronic document (internet): United States Food and Drug Administration. 2003.* Center for Food Safety & Applied Nutrition. *Bacteriological Analytical Manual Online. Salmonella*, 13p. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov>>. Acessado em 04/2003.

▪ *Electronica document (CD or floppy disk): Pereira R.L., Wolkmer P., Lopes S.T.A., Cunha C.M.S., Silva J.H.S. & Cecin M. 2003.* Comparação de métodos de avaliação da glicose sérica em cães. In: *Anais do XXIV Congresso Brasileiro da ANCLIVEPA* (Belo Horizonte, Brasil). 1 CD-ROM.

EXAMPLES OF REFERENCES - ASV'S STANDARDS Example 1

- 1 **Benitah N. 2006.** Canine nasal aspergillosis. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. 21: 82-88.
- 2 **Cadwallader J.A., Goulden B.E., Baxter M., Wyburn R.S. & Alley M.R. 1973.** Rhinitis and sinusitis involving *Aspergillus fumigatus* in a dog. *New Zealand Veterinary Journal*. 21: 229-233.
- 3 **Davey T.N. 2003.** Aspergilose. In: Tilley L.P. & Smith Jr. F.W.K. (Eds). *Consulta veterinária em 5 minutos, espécies canina e felina*. 2.ed. São Paulo: Manole, pp.460-461.
- 4 **Day M.J. 2009.** Canine sino-nasal aspergillosis: parallels with human disease. *Medical Mycology*. 47(Suppl 1): s315-s323.
- 5 **De Lorenzi D., Bonfanti U., Masserdotti C., Caldin M. & Furlanello T. 2006.** Diagnosis of canine nasal aspergillosis by cytological examination: a comparison of four different collection techniques. *Journal of Small Animal Practice*. 47: 316-319.
- 6 **Harvey C.E. & O'Brien J.A. 1983.** Nasal aspergillosis and penicilliosis. In: Kirk R.W. (Ed). *Current Veterinary Therapy VIII*. Philadelphia: W.B. Saunders Co., pp.236-240.
- 7 **Hawkins E.C. 2006.** Distúrbios da Cavidade Nasal. In: Nelson R.W. & Couto C.G. (Eds). *Medicina interna de pequenos animais*. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, pp.219-230.
- 8 **Johnson L.R., Drazenovich T.L., Herrera M.A. & Wisner E.R. 2006.** Results of rhinoscopy alone or in conjunction with sinuscopy in dogs with aspergillosis: 46 cases (2001-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 228: 738-742
- 9 **Kohn B., Kittner A., Werner H., Schmitz S., Rudolph R. & Brunnberg L. 2002.** Nasal aspergillosis in dogs - diagnosis and therapy. *Kleintierpraxis*. 47:415-426.
- 10 **Lane J.G., Clayton-Jones D.G., Thoday K.L. & Thomsett L.R. 1974.** The diagnosis and successful treatment of *Aspergillus fumigatus* infection of the frontal sinuses and nasal chambers of the dog. *Journal of Small Animal Practice*. 15: 79-87.

- 11 **Mathews K.G. 2004.** Fungal Rhinitis. In: King L.G. (Ed). *Textbook of respiratory disease in dogs and cats*. Missouri: Saunders, pp.284-293.
- 12 **Mathews K.G., Davidson A.P., Roplik P.D., Richardson E.F., Komtebedde J., Pappagianis D., Hector R.F. & Kass P.H. 1998.** Comparison of topical administration of clotrimazole through surgically versus nonsurgically placed catheters for treatment of nasal aspergillosis in dogs: 60 cases (1990-1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 213: 501-506.
- 13 **Menezes E.A., Trindade E.C.P., Costa M.M., Freire C.C.F., Cavalcante M.S. & Cunha F.A. 2004.** Airborne fungi isolated from Fortaleza city, State of Ceará, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 46: 133-137.
- 14 **Mezzari A., Perin C., Santos Jr. S.S. & Bernd L.A.G. 2002.** Airborne fungi in the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 44: 269-272.
- 15 **Mortellaro C.M., Della Franca P.D. & Caretta G. 1989.** Aspergillus fumigatus, the causative agent of infection of the frontal sinuses and nasal chambers of the dog. *Mycoses*. 32: 327-335.
- 16 **Peeters D. & Clercx C. 2007.** Update on Canine Sinonasal Aspergillosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 37: 901-916.
- 17 **Pomrantz J.S., Johnson L.R., Nelson R.W. & Wisner E.R. 2007.** Comparison of serologic evaluation via agar gel immunodiffusion and fungal culture of tissue for diagnosis of nasal aspergillosis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 230: 319-323.
- 18 **Saunders J.H. & Van Bree H. 2003.** Diagnosis of nasal aspergillosis in the dog. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 72: 399-408.
- 19 **Sharp N.J.H. 1998.** Aspergillosis and Penicilliosis. In: Greene C.E. (Ed). *Infectious diseases of the dog and cat*. 2nd edn. Philadelphia: Saunders, pp.714-722.
- 20 **Tasker S., Knottenbelt C.M., Munro E.A., Stonehewer J., Simpson J.W. & Mackin A.J. 1999.** Aetiology and diagnosis of persistent nasal disease in the dog: a retrospective study of 42 cases. *Journal of Small Animal Practice*. 40: 473-478.
- 21 **Turek M.M. & Lana S.E. 2007.** Canine nasosinal tumors. In: Withrow S.J. & MacEwen E.G. (Eds). *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 4th edn. Philadelphia: Saunders Company, pp.525-539.
- 22 **von Biberstein S.E., Spiro J.D. & Coll W. 1999.** Acinic cell carcinoma of the nasal cavity. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 120: 759-762.
- 23 **Wilson D.W. & Dungworth D.L. 2002.** Tumors of the respiratory tract. In: Meuten D.J. (Ed). *Tumors in Domestic Animals*. 4th edn. Iowa: Blackwell, pp.365-399.
- 24 **Windsor R.C., Johnson L.R., Herrgesel E.J. & De Cock H.E. 2004.** Idiopathic lymphoplasmacytic rhinitis in dogs: 37 cases (1997-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 224: 1952-1957.
- 25 **Wolf A.M. 1992.** Fungal diseases of the nasal cavity of the dog and cat. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 22: 1119-1132.
- 26 **Wuermattei D.L. & Flo G.L. 1999.** *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair*. 3rd edn. Philadelphia: W.B. Saunders, 743p.
- 27 **Zchwarz P.D. 1993.** Fracture biomechanics of the appendicular skeleton: causes and assessment. In: Bojrab M.J., Smeak D.D. & Bloomberg M.S. (Eds). *Disease mechanisms in small animal surgery*. Philadelphia: Lea & Febiger, pp.1009-1026.

Example 2

- 1 **Beltran M.P. & Vasconcelos J.L.M. 2008.** Conception rate in Holstein cows treated with GnRH or hCG on the fifth day post artificial insemination during summer. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 60: 580-586.
- 2 **Bender R.W., Nascimento A.B., Souza A.H., Ayres H., Araújo R.R., Guenther J.N. & Wiltbank M.C. 2011.** Effect of treatment with human chorionic gonadotropin (hCG) on day 5

- after timed artificial insemination (TAI) on fertility in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 94(E-Suppl.1): 62.
- 3 **Bisinotto R.S., Chebel R.C. & Santos J.E.P. 2010.** Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 93: 3578-3587.
 - 4 **Breuel K.F., Spitzer J.C. & Henricks D.M. 1989.** Systemic progesterone concentration following human chorionic-gonadotropin administration at various times during the estrous-cycle in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 67: 1564-1572.
 - 5 **Brusveen D.J., Cunha A.P., Silva C.D., Cunha P.M., Sterry R.A., Silva E.P., Guenther J.N. & Wiltbank M.C. 2008.** Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 91: 1044-1052.
 - 6 **Brusveen D.J., Souza A.H. & Wiltbank M.C. 2009.** Effects of additional prostaglandin F-2 alpha and estradiol-17 beta during Ovsynch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 92: 1412-1422.
 - 7 **Bulman D.C. & Lamming G.E. 1978.** Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 54: 447-458.
 - 8 **Carter F., Forde N., Duffy P., Wade M., Fair T., Crowe M.A., Evans A.C.O., Kenny D.A., Roche J.F. & Lonergan P. 2008.** Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*. 20: 368-375.
 - 9 **Carter F., Rings F., Mamo S., Holker M., Kuzmany A., Besenfelder U., Havlicek, V., Mehta J.P., Tesfaye D., Schellander K. & Lonergan P. 2010.** Effect of elevated circulating progesterone concentration on bovine blastocyst development and global transcriptome following endoscopic transfer of in vitro produced embryos to the bovine oviduct. *Biology of Reproduction*. 83: 707-719.
 - 10 **Cerri R.L.A., Chebel R.C., Rivera F., Narciso C.D., Oliveira R.A., Amstalden M., Baez-Sandoval G.M., Oliveira L.J., Thatcher W.W. & Santos J.E.P. 2011.** Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. *Journal of Dairy Science*. 94: 3352-3365.
 - 11 **Cerri R.L.A., Chebel R.C., Rivera F., Narciso C.D., Oliveira R.A., Thatcher W.W. & Santos J.E.P. 2011.** Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. *Journal of Dairy Science*. 94: 3342-3351.
 - 12 **Chebel R.C., Al-Hassan M.J., Fricke P.M., Santos J.E.P., Lima J.R., Martel C.A., Stevenson J.S., Garcia R. & Ax R.L. 2010.** Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 93: 922-931.
 - 13 **Christenson R.K., Ford J.J. & Redmer DA. 1985.** Metabolic-clearance and production-rates of estradiol and progesterone during pubertal and postpubertal development in gilts. *Journal of Reproduction and Fertility*. 75: 247-253.
 - 14 **Clemente M., de la Fuente J., Fair T., Al Naib A., Gutierrez-Adan A., Roche J.F., Rizos D. & Lonergan P. 2009.** Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction* 138: 507-517.
 - 15 **Cunha A.P., Guenther J.N., Maroney M.J., Giordano J.O., Nascimento A.B., Bas S., Ayres H. & Wiltbank M.C. 2008.** Effects of high vs. low progesterone concentrations during Ovsynch on double ovulation rate and pregnancies per AI in high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 91(Suppl 1): 246.
 - 16 **Dawson F.L.M. 1954.** Progesterone in functional infertility of cattle. *Veterinary Records*. 66: 324-326.
 - 17 **Denicol A.C., Lopes Jr. G., Mendonça L.G.D., Rivera F.A., Guagnini F., Perez R.V., Lima J.R., Bruno R.G.S., Santos J.E.P. & Chebel R.C. 2012.** Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of

- lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science*. 95: 1794-1806.
- 18 **De Silva A.W.M.V., Anderson G.W., Gwazdauskas F.C., McGilliard M.L. & Lineweaver J.A. 1981.** Interrelationships with estrous behavior and conception in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 64: 2409-2418.
 - 19 **Diaz F.J., Anderson L.E., Wu Y.L., Rabot A., Tsai S.J. & Wiltbank M.C. 2002.** Regulation of progesterone and prostaglandin F2alpha production in the CL. *Molecular Cellular Endocrinology*. 191: 65-80.
 - 20 **Fischer-Tenhagen C., Thiele G., Heuwieser W. & Tenhagen B.A. 2010.** Efficacy of a Treatment with hCG 4 days After AI to Reduce Pregnancy Losses in Lactating Dairy Cows After Synchronized Ovulation. *Reproduction in Domestic Animals*. 45: 468-472.
 - 21 **Forde N., Beltman M.E., Duffy G.B., Duffy P., Mehta J.P., O'Gaora P., Roche J.F., Lonergan P. & Crowe M.A. 2011.** Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biology of Reproduction*. 84: 266-278.
 - 22 **Funston R.N., Lipsey R.J., Geary T.W. & Roberts A.J. 2005.** Effect of administration of human chorionic gonadotropin after artificial insemination on concentrations of progesterone and conception rates in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 83: 1403-1405.
 - 23 **Ghanem M.E., Nakao T., Nakatani K., Akita M. & Suzuki T. 2006.** Milk progesterone profile at and after artificial insemination in repeatbreeding cows: effects on conception rate and embryonic death. *Reproduction in Domestic Animals*. 41: 180-183.
 - 24 **Gumen A., Guenther J.N. & Wiltbank M.C. 2003.** Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 86: 3184-3194.
 - 25 **Hanlon D.W., Davidson P.J., Hittmann A.R. & Joe A.K. 2005.** Supplementing previously treated anestrous dairy cows with progesterone does not increase firstservice conception rate. *Theriogenology*. 63: 239-245.
 - 26 **Hanlon D.W., Jarratt G.M., Davidson J.P.J., Millar A.J. & Douglas V.L. 2005.** The effect of hCG administration five days after insemination on the first service conception rate of anestrous dairy cows. *Theriogenology*. 63: 1938-1945.
 - 27 **Herlihy M.M., Giordano J.O., Souza A.H., Ayres H., Ferreira R.M., Keskin A., Nascimento A.B., Guenther J.N., Gaska J.M., Kacuba S.J., Crowe M.A., Butler S.T. & Wiltbank M.C. 2012.** Presynchronization with Double-Ovsynch improves fertility at first postpartum artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 95(7): 7003-7014.
 - 28 **Herrick J.B. 1953.** Clinical observation of progesterone therapy in repeat breeding heifers. *Veterinary Medicine*. 48: 489-490.
 - 29 **Howard J.M., Manzo R., Dalton J.C., Frago F. & Ahmadzadeh A. 2006.** Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*. 95: 224233.
 - 30 **Hunter R.H.F. 2005.** The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity? *Reproduction, Nutrition and Development*. 45: 281-290.
 - 31 **Inskeep E.K. 2004.** Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science*. 82(E-Suppl): E24-39.
 - 32 **Janson P.O., Damber J.E. & Axen C. 1981.** Luteal blood flow and progesterone secretion in pseudopregnant rabbit. *Journal of Reproduction and Fertility*. 63: 491497.
 - 32 **Kendall N.R., Flint A.P.F. & Mann G.E. 2009.** Incidence and treatment of inadequate postovulatory progesterone concentrations in repeat breeder cows. *Veterinary Journal*. 181: 158-162.
 - 34 **Larson S.F., Butler W.R. & Currie W.B. 1997.** Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 80: 1288-1295.
 - 35 **Larson S.F., Butler W.R. & Currie W.B. 2007.** Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial

- insemination. *Animal Reproduction Science*. 102: 172-179.
- 36 **Larson J.E., Krisher R.L. & Lamb G.C. 2011.** Effects of supplemental progesterone on the development, metabolism and blastocyst cell number of bovine embryos produced in vitro. *Reproduction, Fertility and Development*. 23: 311-318.
 - 37 **Lemley C.O., Wilmoth T.A., Tager L.R., Krause K.M. & Wilson M.E. 2010.** Effect of a high cornstarch diet on hepatic cytochrome P450 2C and 3A activity and progesterone half-life in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 93: 1012-1021.
 - 38 **Loneragan P., Woods A., Fair T., Carter F., Rizos D., Ward F., Quinn K. & Evans A. 2007.** Effect of embryo source and recipient progesterone environment on embryo development in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*. 19: 861-868.
 - 39 **Mann G.E. & Lamming G.E. 1999.** The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 34: 269-274.
 - 40 **Martins J.P.N., Policelli R.K., Neuder L.M., Raphael W. & Pursley J.R. 2011.** Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin F-2 alpha of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 94: 2815-2824.
 - 41 **McNeill R.E., Sreenan J.M., Diskin M.G., Cairns M.T., Fitzpatrick R., Smith T.J. & Morris D.G. 2006.** Effect of systemic progesterone concentration on the expression of progesterone-responsive genes in the bovine endometrium during the early luteal phase. *Reproduction Fertility and Development*. 18: 573-583.
 - 42 **Moreira F., de la Sota R.L., Diaz T. & Thatcher W.W. 2000.** Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*. 78: 1568-1576.
 - 43 **Moreira F., Orlandi C., Risco C.A., Mattos R., Lopes F. & Thatcher W.W. 2001.** Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 84: 1646-1659.
 - 44 **Morris D. & Diskin M. 2008.** Effect of progesterone on embryo survival. *Animal*. 2: 1112-1119.
 - 45 **Murray M. 1991.** Microsomal cytochrome-P450-dependent steroid metabolism in male sheep liver - Quantitative importance of 6-beta-hydroxylation and evidence for the involvement of a P450 from the IIA subfamily in the pathway. *Journal of Steroid Biochemistry Molecular Biology*. 38: 611-619.
 - 46 **Murray M. 1992.** Participation of the a cytochrome P450 enzyme from the 2C subfamily in progesterone 21-hydroxylation in sheep liver. *Journal of Steroid Biochemistry Molecular Biology*. 43: 591-593.
 - 47 **Nascimento A.B., Souza A.H., Guenther J.N., Dalla Costa F.P., Sartori R. & Wiltbank M.C. 2012.** Effects of treatment with human chorionic gonadotrophin or intravaginal progesterone-releasing device after AI on circulating progesterone concentrations in lactating dairy cows. *Reproduction, Fertility and Development*. [in press].
 - 48 **Nasser L.F., Sá Filho M.F., Reis E.L., Rezende C.R., Mapletoft R.J., Bo G.A. & Baruselli P.S. 2011.** Exogenous progesterone enhances ova and embryo quality following superstimulation of the first follicular wave in Nelore (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology* 76: 320-327.
 - 49 **Niswender G.D., Juengel J.L., Silva P.J., Rollyson M.K. & McIntush E.W. 2000.** Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiology Review*. 80: 1-29.
 - 50 **O'Shea J.D., Rodgers R.J. & D'Occhio M.J. 1989.** Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow. *Journal of Reproduction and Fertility*. 85: 483-487.
 - 51 **Parr R.A., Davis I.F., Miles M.A. & Squires T.J. 1993.** Liver blood-flow and metabolic-clearance rate of progesterone in sheep. *Research Veterinary Science*. 55: 311-316.
 - 52 **Ribeiro E.S., Bisinotto R.S., Favoreto M.G., Martins**

L.T., Cerri R.L., Silvestre F.T., Greco, L.F., Thatcher

- W.W. & Santos J.E. 2012.** Fertility in dairy cows following presynchronization and administering twice the luteolytic dose of prostaglandin F2 α as one or two injections in the 5-day timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*. 78: 273-284.
- 53 Rivera F.A., Mendonça L.G.D., Lopes G., Santos J.E.P., Perez R.V., Amstalden M., Correa-Calderon A. & Chebel R.C. 2011.** Reduced progesterone concentration during growth of the first follicular wave affects embryo quality but has no effect on embryo survival post transfer in lactating dairy cows. *Reproduction*. 141: 333-342.
- 54 Robinson N.A., Leslie K.E. & Walton J.S. 1989.** Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 72: 202-207.
- 55 Sangsritavong S. 2002.** Studies of steroid metabolism in dairy cattle. 90f. Madison, WI. (PhD Dissertation - Dairy Science) - University of Wisconsin, USA.
- 56 Sangsritavong S., Combs D.K., Sartori R.F., Armentano L.E. & Wiltbank M.C. 2002.** High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol 17b in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 85(12): 2831-2842.
- 57 Santos J.E.P., Thatcher W.W., Pool L. & Overton M.W. 2001.** Effect of human chorionic gonadotropin, on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 79(12): 2881-2894.
- 58 Schmitt E.J.P., Diaz T., Barros C.M., delaSota R.L., Drost M., Fredriksson E.W., Staples C.R., Thorner R. & Thatcher W.W. 1996.** Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Animal Science*. 74: 1074-1083.
- 59 Shams-Esfandabadi N., Shirazi A., Mirshokrai P. & Bonyadian M. 2007.** Influence of hCG administration after AI on conception rates and serum progesterone concentration in cattle. *Pakistan Journal of Biology Science*. 10: 2709-2713.
- 60 Silva C.C., Groome N.P. & Knight P.G. 1999.** Demonstration of a suppressive effect of inhibin alpha-subunit on the developmental competence of *in vitro* matured bovine oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 115: 381-388.
- 61 Silva C.C. & Knight P.G. 2000.** Effects of androgens, progesterone and their antagonists on the developmental competence of *in vitro* matured oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*. 115: 381-388.
- 62 Smith D.L., Stinefelt B.M., Blemings K.P. & Wilson M.E. 2006.** Diet-induced alterations in progesterone clearance appear to be mediated by insulin signaling in hepatocytes. *Journal of Animal Science*. 84: 1102-1109.
- 63 Souza A.H., Ayres H., Ferreira R.M., Wiltbank M.C. 2008.** A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 70: 208-215.
- 64 Souza A.H., Gumen A., Silva E.P.B., Cunha A.P., Guenther J.N., Peto C.M., Caraviello D.Z. & Wiltbank M.C. 2007.** Supplementation with estradiol-17 beta before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the Ovsynch protocol in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 90: 4623-4634.
- 65 Souza A.H., Silva E.P.B., Cunha A.P., Gumen A., Ayres H., Brusveen D.J., Guenther J. N. & Wiltbank M.C. 2011.** Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. *Theriogenology*. 75: 722-733.
- 66 Sreenan J.M. & Diskin M.G. 1983.** Early embryonic mortality in the cow - its relationship with progesterone concentration. *Veterinary Records*. 112: 517-521.
- 67 Sterry R.A., Welle M.L. & Fricke P.M. 2006.** Treatment with gonadotropin-releasing hormone after first timed artificial insemination improves fertility in noncycling lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 89: 4237-4245.
- 68 Stevenson J.S., Portaluppi M.A., Tenhouse D.E., Lloyd A., Eborn D.R., Kacuba S. & DeJarnette J.M. 2007.** Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian

- responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. *Journal of Dairy Science*. 90: 331-340.
- 69 **Stevenson J.S. & Pulley S.L. 2012.** Pregnancy per artificial insemination after presynchronizing estrous cycles with the Presynch-10 protocol or prostaglandin F(2 α) injection followed by gonadotropin-releasing hormone before Ovsynch-56 in 4 dairy herds of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 95: 6513-6522.
- 70 **Stevenson J.S., Pursley J.R., Garverick H.A., Fricke P.M., Kesler D.J., Ottobre J.S. & Wiltbank M.C. 2006.** Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. *Journal of Dairy Science*. 89: 2567-2578.
- 71 **Stevenson J.S., Tenhouse D.E., Krisher R.L., Lamb G.C., Larson J.E., Dahlen C.R., Pursley J.R., Bello N.M., Fricke P.M., Wiltbank M.C., Brusveen D.J., Burkhart M., Youngquist R.S. & Garverick H.A. 2008.** Detection of anovulation by heatmount detectors and transrectal ultrasonography before treatment with progesterone in a timed insemination protocol. *Journal of Dairy Science*. 91: 2901-2915.
- 72 **Stormshak F., Inskeep E.K., Lynn J.E., Pope A.L. & Casida L.E. 1963.** Progesterone levels in corpora lutea and ovarian effluent blood of the ewe. *Journal of Animal Science*. 22: 1021-1026.
- 73 **Stronge A.J. H., Sreenan J.M., Diskin M.G., Mee J.F., Kenny D.A. & Morris D.G. 2005.** Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*. 64: 1212-1224.
- 74 **Villarroel A., Martino A., BonDurant R.H., Deletang F. & Sisco W.M. 2004.** Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology*. 61: 1513-1520.
- 75 **Waldmann A., Reksen O., Landsverk K., Kommisrud E., Dahl E., Refsdal A. & Ropstad E. 2001.** Progesterone concentrations in milk fat at first insemination - effects on non-return and repeat-breeding. *Animal Reproduction Science*. 65: 33-41.
- 76 **Walton J.S., Halbert G.W., Robinson N.A. & Leslie K.E. 1990.** Effects of progesterone and human chorionic-gonadotropin administration 5 days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Canadian Journal of Veterinary Research-Revue Canadienne De Recherche Veterinaire*. 54: 305-308.
- 77 **Willard S., Gandy S., Bowers S., Graves K., Elias A. & Whisnant C. 2003.** The effects of GnRH administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology*. 59: 1799-1810.
- 78 **Wiltbank M.C., Carvalho P.D., Keskin A., Hackbart K.S., Meschiatti M.A., Bastos M.R., Guenther J.N., Nascimento A.B., Herlihy M.M., Amundson M.C. & Souza A.H. 2011.** Effect of progesterone concentration during follicle development on subsequent ovulation, fertilization, and early embryo development in lactating dairy cows. *Biology of Reproduction*. 85: 685.
- 79 **Wiltbank J.N., Hawk H.W., Kidder H.E., Black W.G., Ulberg L.C. & Casida L.E. 1956.** Effect of progesterone therapy on embryos survival in cows of lowered fertility. *Journal of Dairy Science*. 39: 456-461.
- 80 **Wiltbank M., Lopez H., Sartori R., Sangsritavong S. & Gumen A. 2006.** Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*. 65: 17-29.

