

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

INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO PELO HERPESVÍRUS
EM EQUINOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO

TALITA D'PAULA TAVARES PEREIRA MUNIZ

RECIFE - PE

2018

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

INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO PELO HERPESVÍRUS
EM EQUINOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO

TALITA D'PAULA TAVARES PEREIRA MUNIZ

Dissertação submetida à Coordenação do Curso 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. Gustavo Ferrer Carneiro

RECIFE - PE

2018

BANCA EXAMINADORA

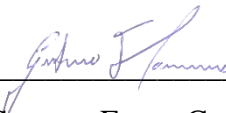
Inquérito epidemiológico da infecção pelo herpesvírus em equinos no estado de Pernambuco

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal Tropical, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central dessa universidade. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas as normas de ética científica.



Talita D'Paula Tavares Pereira Muniz

Data de aprovação 26/02/2018



Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro (Orientador)

Departamento de Medicina Veterinária
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Unidade Acadêmica de Garanhuns

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior

Departamento de Medicina Veterinária
Universidade Federal Rural de Pernambuco



Prof. Dr. Victor Netto Maia

Departamento de Medicina Veterinária
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Unidade Acadêmica de Garanhuns

Aos meus pais,
pelo esforço diário para que eu pudesse ter, acima de tudo, acesso a
uma educação de qualidade. Maior e melhor herança.
Com amor, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter sempre me dado ombros fortes para superar todas as dificuldades e chegar aqui.

Aos meus pais, José Hermógenes e Silvane Tavares, que sempre estiveram me iluminando, apoiando e incentivando, nas horas difíceis e felizes. Ao meu irmão, Danilo Tavares, pelos incentivos e carinho, assim como minha cunhada, Rúbia de Kássia, pelos conselhos e exemplo de vida.

Ao meu orientador, Gustavo Ferrer Carneiro, pela oportunidade em trabalhar nesse projeto e pela parceria, confiança e companheirismo de sempre. Pude crescer profissionalmente e pessoalmente com seus incentivos, mesmo o senhor acreditando mais em nós do que nós mesmos, muitas vezes. Que Deus o abençoe sempre!

Ao meu conselheiro profissional e professor para todas as horas, José Wilton Pinheiro Júnior. Agradeço a paciência, competência, dedicação e disponibilidade. Também continuo crescendo profissionalmente e pessoalmente com o seu exemplo pessoal e profissional. Que Deus conceda muitas bênçãos em sua vida!

Ao professor Huber Rizzo e a dra Maria do Carmo Lara, pela disponibilidade, atenção e por terem me guiado durante o experimento, além de terem cedido seus espaços e materiais para minhas análises.

Gostaria também de agradecer aos meus amigos e colegas Veterinários que me ajudaram nas “coletas eternas” da minha pesquisa: Adilson Conrado, André Barros, Antônio Brito, Bernardo Galindo, Diogo Gutemberg, Ewerton Renner, Fernando Farias, Luiz Morotó, Paulo Henrique, Ramon Nunes e Wagner Ferreira. Foram mais dias de luta que de glória mas que, no fim, deu tudo certo. Que Deus retribua vocês em dobro!

Agradeço também aos proprietários de todas as fazendas e haras nos quais pude realizar essa pesquisa, pela confiança, disponibilidade e generosidade em querer ajudar na pesquisa.

À CAPES, pela bolsa de mestrado.

A todos os meus amigos e colegas de profissão: Amanda de Noronha, Ana Erundina, Elizabete Teixeira, Illanna Brandão, Sara Lima e outros já citados acima, pelos conselhos e amizade de sempre. Obrigada por me ajudarem e me guiarem nos meus sufocos. Amo vocês!

As minhas amigas, Raísa Fernanda e Mariana Lima, pela amizade de sempre, pelos momentos de descontração e paciência nos momentos em que não pude estar presente. Prometo que os momentos de descontração agora “podem sair”! Amo vocês!

Estes dois anos de pós-graduação passaram voando, mas foram um dos mais intensos que vivi. Por fim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para este estudo, meu muito obrigada!

“Se as coisas são inatingíveis...ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora
A presença distante das estrelas!”.

(xii) Das Utopias, Mário Quintana

SUMÁRIO	Página
1. QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA	14
2. OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 HERPESVÍRUS EQUINO	17
3.1.1 Histórico	17
3.1.2 Histórico no Brasil	18
3.1.3 Etiologia	19
3.1.4 Epidemiologia	20
3.1.5 Patogenia e sinais clínicos	23
3.1.6 Diagnóstico	26
3.1.7 Profilaxia	27
CAPÍTULO I	31
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
APÊNDICES	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Foto de microscopia eletrônica do herpesvírus equino. Fonte: Stannard (1995); (B) Esquema do herpesvírus equino. Fonte: Paillot et al. (2008)..... **19**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudos epidemiológicos da infecção pelo HVE em equinos no Brasil **18**

Tabela 2. Fatores de risco associados à infecção herpética..... **21**

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais espécies de herpesvírus que acometem equinos.....	20
---	-----------

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E DEFINIÇÕES

% - Porcentagem

°C - Graus Celsius

μL - Microlitros

DNA - Ácido desoxirribonucleico

ELISA - Ensaio Imunoenzimático

EHV - *Equine herpesvirus*

FC - Fixação do Complemento

H - Horas

HVE - Herpesvírus equino

ICTV - Comitê Internacional de Taxonomia Viral

IgG - Imunoglobulina G

IMF - Imunofluorescência

mm - Milímetros

nm - Nanômetros

OR - *Odds ratio*

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

P4 - Progesterona

RNA - Ácido ribonucleico

SN - Soroneutralização

SNC - Sistema nervoso central

RESUMO

A herpesvirose equina é uma das principais afecções virais que causa impactos negativos na equideocultura, principalmente na reprodução de equinos. Objetivou-se com este estudo realizar um inquérito epidemiológico da infecção por herpesvírus em equinos na microrregião do Vale do Ipojuca, agreste do estado de Pernambuco, Brasil. A soroneutralização viral foi realizada em 322 equinos não vacinados contra a infecção herpética, procedentes de 42 propriedades de 16 municípios pertencentes à Microrregião do Vale do Ipojuca. Um questionário investigativo foi utilizado para análise dos fatores de risco associados à infecção por herpesvírus equino. Observou-se ocorrência de 23,3% (75/322; Índice de confiança (IC) 95%: 18,9 – 28,4%) para infecção por herpesvírus em equinos. Além disso, 61,9% (26/42) das propriedades possuíam pelo menos um animal positivo, com variação da ocorrência de infecção entre 5 a 100% inter-rebanhos. Foram considerados fatores de risco associados à infecção: criação consorciada de equinos com muare (Odds ratio - OR: 6,64; IC 95%: 2,66% - 16,58%) e tipo da propriedade, fazenda (OR: 1,88; IC 95%: 0,99-3,57) e haras (OR: 2,76; IC 95%: 1,42-5,35). Ao analisar índices reprodutivos, associou-se à infecção herpética: a utilização de biotécnicas reprodutivas com a monta natural ($p = 0,003$); histórico de mortalidade perinatal no rebanho ($p = 0,004$); intervalo entre partos superior a dois anos ($p = 0,003$); e a sazonalidade reprodutiva, com a presença de éguas com ciclos irregulares no rebanho ($p = 0,041$). Este é o primeiro registro da infecção por herpesvírus em equinos no estado de Pernambuco, Brasil. A partir dos resultados obtidos, sugere-se a adoção de medidas profiláticas direcionadas aos fatores de risco identificados, a fim de reduzir a ocorrência da infecção herpética na região estudada.

Palavras-chave: Aborto, fatores de risco, *Herpesvirus equi*, Soroneutralização.

ABSTRACT

Equine herpesvirus is one of the main viral diseases that causes negative impacts on equidae culture, especially on equine reproduction. This study's objective to conduct an epidemiological investigation of herpesvirus infection in horses in the micro-region of the Ipojuca Valley, in the state of Pernambuco, Brazil. A viral seroneutralization was performed in 322 non-vaccinated horses against herpetic infection, from 42 properties of 16 municipalities belonging to the Ipojuca Valley Microregion. An investigated questionnaire was used to analyze the risk factors associated with equine herpesvirus infection. The occurrence of 23.3% (75/322; 95% confidence interval (CI): 18.9 - 28.4%) for herpesvirus infection in horses was observed. In addition, 61.9% (26/42) of the good possessing at least one positive animal, with variation of the occurrence of infection between 5 to 100% inter-herds. (OR: 6.64, 95% CI: 2.66% - 16.58%) and farm type (OR: 1.88, 95% CI: 0.99-3.57) and farms (OR : 2.76, 95% CI: 1.42-5.35). When analyzing reproductive indexes, associate with herpetic infection: a use of reproductive biotechniques with a natural mount ($p = 0.003$); history of perinatal mortality without herds ($p = 0.004$); interval between deliveries greater than two years ($p = 0.003$); and reproductive seasonality, with presence of mares with irregular cycles in the herd ($p = 0.041$). This is the first record of herpesvirus infection in horses in the state of Pernambuco, Brazil. From the results obtained, it is suggested to adopt prophylactic measures directed to the identified risk factors, in order to reduce the occurrence of herpetic infection in the studied region.

Keywords: Abortion, risk factors, *Herpesvirus equi*, Seroneutralization.

1 QUALIFICAÇÃO DO PROBLEMA

A equideocultura constitui um importante setor do agronegócio brasileiro. As atividades equestres movimentam cerca de R\$ 7 bilhões por ano, com ocupação direta de, aproximadamente, 640 mil pessoas e indireta de 2,6 milhões de pessoas (CNA, 2010). O rebanho equino brasileiro é o quarto maior do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América (EUA), China e México. No Nordeste, estão 1,2 milhão desses animais, sendo o segundo maior plantel do país e, destes, aproximadamente, 128 mil se encontram no estado de Pernambuco (FAO, 2010; IBGE, 2016).

A Microrregião do Vale do Ipojuca é uma subdivisão do estado de Pernambuco e está localizada na Mesorregião do Agreste pernambucano, ao longo da bacia hidrográfica do rio Ipojuca. Abrange 16 municípios, onde a economia da região é predominantemente advinda do setor de serviços ou terciário, seguido da indústria e setor agropecuário (SILVA et al., 2015). Neste último, a equideocultura possui grande importância, pois os equinos são utilizados desde a prática de esportes equestres, em destaque para a vaquejada, até atividades reprodutivas ou destinados ao lazer (IBGE, 2016).

Nesse contexto, sabe-se que todo cavalo é resultado do equilíbrio harmônico entre o fornecimento de uma alimentação de boa qualidade, associado a uma genética íntegra e consistente e adequado manejo sanitário e reprodutivo. A prática firmada em tais princípios permite, então, almejar resultados desejáveis na performance de cada animal (BECK; CINTRA, 2011). A competência reprodutiva da égua, inclusive, é analisada pela produção viável de potros anualmente. Porém, um fator essencial é a capacidade dessa égua de manter a gestação, com um ambiente uterino favorável à vida embrionária e fetal (TRAÇA, 2010).

Porém, apesar dos grandes investimentos realizados, inclusive em biotecnologias reprodutivas a fim de potencializar a produtividade, ainda há falhas no manejo higiênico-sanitário que resultam em significativos prejuízos econômicos (DIAZ, 2013). Adicionalmente, tem-se cada vez mais relacionado a ocorrência de enfermidades infecciosas com impactos negativos na reprodução, como a ocorrência de surtos de abortos (NUGENT et al., 2006).

As afecções virais têm elevada importância epidemiológica e econômica na equideocultura mundial, destacando-se as infecções herpéticas (AGUIAR et al., 2008). A herpesvirose equina causa impacto negativo devido a quadros clínicos respiratórios, reprodutivos e/ou neurológicos, como a rinopneumonite em potros, os surtos de abortos e a mieloencefalopatia, respectivamente. A detecção da infecção herpética em animais não-vacinados torna-se importante indicativo de exposição prévia a esse agente (LUNN et al., 2009).

Esta enfermidade é considerada uma das que causam mais prejuízos para a criação de equinos, principalmente quando ocorrem surtos de abortos. Além disso, a capacidade de estabelecer latência, característica inerente aos herpesvírus, garante sua sobrevivência no hospedeiro e a disseminação natural entre os hospedeiros (GRINDE, 2013). A reativação do vírus latente pode levar à recrudescência e resultar em transmissão viral para hospedeiros suscetíveis no rebanho. A gravidade da doença clínica associada à infecção por herpesvírus equino é influenciada por uma série de fatores relacionados ao ambiente e ao hospedeiro, incluindo idade, condição física e estado imunológico (MA et al., 2013).

A fonte de infecção em rebanhos equinos pode ser desde um animal recentemente introduzido à propriedade, sem prévia realização de quarentena, a fêmeas ou garanhões latentemente infectados. Esses, na maioria das vezes, são negligenciados quanto à vacinação, colocando em risco à proteção imunológica do rebanho, pela disseminação do vírus por secreções nasais ou sêmen, apesar da transmissão venérea em equinos ainda não estar bem elucidada (HEBIA-FELLAH et al., 2009).

Sabe-se do expressivo poder econômico atribuído à equideocultura, importante setor do agronegócio brasileiro que movimenta milhões de reais todos os anos. E por isso, considerando que o tempo de gestação desses animais é relativamente longo, e que alguns são de alto valor econômico, assim como seus produtos, é de grande importância o estudo das principais enfermidades causadoras de abortos nessa espécie, a obtenção dos dados epidemiológicos regionais, assim como o aprimoramento de técnicas laboratoriais que possibilitem a identificação do agente a curto prazo (SILVA, 2014).

Considerando-se o impacto que a herpesvirose equina causa na cadeia produtiva da equideocultura, principalmente na reprodução de equinos, e devido à limitação no conhecimento atual sobre a infecção herpética em equinos no agreste pernambucano, faz-se necessário o estudo epidemiológico da infecção por herpesvírus equino a fim de se poder adotar as devidas medidas profiláticas.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Realizar inquérito epidemiológico da infecção pelo herpesvírus equino no estado de Pernambuco.

2.2 Específicos

- Detectar a ocorrência de anticorpos anti-HVE em equinos não vacinados de propriedades do Agreste de Pernambuco;
- Identificar os fatores de risco associados à infecção por *Herpesvirus equi*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 HERPESVÍRUS EQUINO

A palavra *herpes* vem do grego *herpein*, que significa “rastejar, rastejamento” e relaciona-se com as primeiras observações das lesões causadas por estes tipos de vírus, que pareciam “rastejar” na epiderme dos animais afetados. A evolução dos herpesvírus ocorreu paralelamente aos seus hospedeiros naturais, explicando-se, assim, o alto nível de adaptação desses agentes virais a seus hospedeiros. São diversas semelhanças estruturais entre os diferentes tipos de herpesvírus, o que corrobora ao fato de sua existência ser relacionada a um ancestral comum com duas linhagens: a dos herpesvírus alfa, beta e gama, potenciais infectantes de animais de sangue quente, como mamíferos e aves, e a dos herpesvírus com potencial infectante a animais de sangue frio (FRANCO, ROEHE, 2007).

3.1.1 Histórico

O herpesvírus equino foi descrito pela primeira vez em 1933, por Dimock e Edwards, que observaram surtos de abortos epizooticos em éguas, no estado do Kentucky (EUA), com possível etiologia viral (DIMOCK; EDWARDS, 1933). Em 1947, Dimock e colaboradores realizaram estudo retrospectivo no mesmo estado americano, de 1921 a 1947, e observaram que de 1.150 fetos abortados, 26% eram de etiologia viral.

Acreditava-se inicialmente que os abortos seriam sequelas da Influenza Equina, visto que esse agente etiológico pode ocasionar sinais clínicos respiratórios e abortos em éguas (MANNINGER; CSANTOS, 1941). No entanto, as lesões observadas por Influenza em equinos não poderiam ser relacionadas com as causadas pelos surtos de abortos, uma vez que essas lesões eram necróticas e com corpúsculos de inclusão intranucleares em órgãos como fígado, baço e pulmões dos fetos abortados. Além disso, os abortos observados geralmente não possuíam quaisquer sinais clínicos prévios. Por isso, em 1959, Doll e colaboradores, com base nos achados histopatológicos do trato respiratório de potros e de alguns órgãos dos fetos abortados já observados, sugeriram que o vírus causador do aborto equino fosse renomeado para vírus da rinopneumonite equina.

Plumer e Waterson classificaram, então, em 1963 o vírus da rinopneumonite e dos abortos equinos como o herpesvírus equino (HVE), na família *Herpesviridae*, pela sua semelhança microscópica a Herpes simplex. Pelas suas características morfológicas e antigênicas semelhantes, até 1981 herpesvírus equino possuía única classificação, herpesvírus equino tipo 1 (HVE-1) com subtipos 1 e 2 (STUDDERT et al., 1981). A reclassificação ocorreu posteriormente, onde os subtipos

1 e 2 equivaleram aos tipos 1 e 4 (HVE-1 e HVE-4), respectivamente, devido a estudos que permitiram estabelecer suas particularidades biológicas, genéticas e consequentemente taxonômicas (ICTV, 2016).

Associou-se, pela primeira vez, as lesões neurológicas ao herpesvírus equino em 1966, quando Saxegaard realizou isolamento viral de partes do encéfalo e da medula de um equino com paralisia dos membros posteriores.

3.1.2 Histórico no Brasil

O primeiro registro da infecção herpética em equinos no Brasil foi realizado em 1966, em Campinas-SP, pela identificação de inclusões de partículas virais a partir de lesões hepáticas e pulmonares de dois fetos abortados, com características de doença herpética (NILSON; CORREA, 1966).

Desde então, diversos estudos foram realizados para determinar a ocorrência da infecção em equinos no Brasil (Tabela 1). Porém, até o presente momento, a ocorrência da infecção herpética em equinos criados no estado de Pernambuco ainda não foi investigada.

Tabela 1. Estudos epidemiológicos da infecção pelo HVE em equinos no Brasil

Autores	Ano	Estado	Teste sorológico	N	% de positivos
Fernandes	1988	SP	FC	586	67,2%
Kotait et al.	1989	SP	SN	1.178	13,5%
Modolo et al.	1989	SP	FC	250	17,3%
Vargas; Weiblen	1991	RS	SN	348	84,7%
Vasconcellos	1997	SP	FC	59	88,1%
Moreira et al.	1998	PR	IF	21	19%
Moreira et al.	2000	PR	SN	299	17,7%
Cunha et al.	2002	SP	SN	1.341	27,2%
Heinemann et al.	2002	PA	SN	96	17,7%
Lara et al.	2003	SP	SN	659	33,4%
Diel et al.	2006	RS	SN	1.506	4,5%
Lara et al.	2006	PR	SN	97	4,1%
Pena et al.	2006	PA	SN	506	45%
Aguiar et al.	2008	RO	SN	176	22,7%
Cunha et al.	2009	SP	SN	163	26,0%
Lara et al.	2010	MG	SN	826	17,6%
Sangioni et al.	2011	RS	SN	91	0%
Alencar-Araripe et al.	2014	CE	SN	68	41,2%
Diaz et al.	2015	RJ	SN	581	29,6%

Convenções: FC - fixação do complemento; SN - soroneutralização viral; IF - imunofluorescência.

3.1.3 Etiologia

A herpesvirose equina é causada pelo herpesvírus equino, que são vírus envelopados que medem, aproximadamente, 150 nm de diâmetro e possui DNA linear de cadeia dupla. A composição proteica do HVE-1 consiste em seis polipeptídeos arranjados para formar uma subunidade, o nucleocapsídeo icosaédrico, envolvendo o DNA no centro do vírus. O envelope, de camada tripla que envolve o nucleocapsídeo, é composto de uma bicamada proteica e lipídica (Figura 1) (MURPHY et al., 1999). As sequências de nucleotídeos ou as sequências de aminoácidos previstas de membros da subfamília formam uma linhagem distinta dentro da família. A região do genoma que compreende a sequência curta única (US) e as repetições inversas internas e internas flanqueadoras (IRS e TRS) contém genes homólogos aos encontrados no Vírus do herpes simples humano (HHV-1) e característicos da subfamília. Os vírus infectam fibroblastos em cultura e células epiteliais *in vivo*. Muitos membros causam lesões epiteliais, geralmente vesiculares, em seus hospedeiros naturais (ICTV, 2016).

O processo de replicação viral inicia-se pela ligação do vírus à membrana citoplasmática com entrada auxiliada pelas glicoproteínas de membrana do vírus (SLATER et al., 2006). Já foram classificadas 12 glicoproteínas de membrana: gB, gC, gD, gG, gH, gI, gK, gL, gM, gN e gp2 (PAILLOT et al., 2008). Estas se ligam aos receptores da membrana citoplasmática, permitindo, assim, a fusão das duas membranas. A transcrição é dividida em três fases ou três grupos de genes, *immediate early* (IE), *early* (E) e *late* (L), que são transcritos e traduzidos em proteínas. As proteínas imediatas (IE) sintetizam novas moléculas de DNA virais. As proteínas imediatas primárias participam da transcrição adicional. As proteínas tardias (L) montam os capsídeos e incorporam o DNA viral recém-adquirido. Logo após, os nucleocapsídeos deixam o núcleo por brotamento, formando, assim, o envelope, e direcionando-se ao espaço perinuclear. Por fim, as partículas virais se ligam às vesículas exocíticas, fundem-se à membrana plasmática permitindo, assim, a liberação de novos vírus extracelularmente (SLATER et al., 2006).

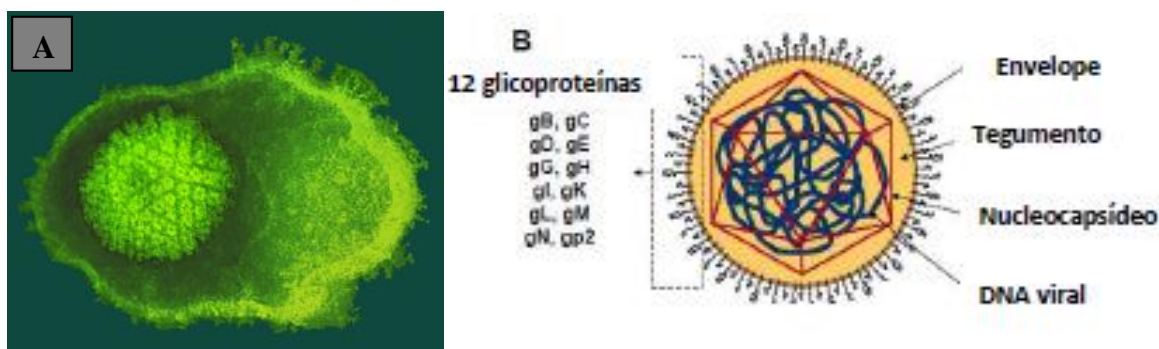


Figura 1. (A) Foto de imunofluorescência do herpesvírus equino. Fonte: Stannard (1995); (B) Esquema do herpesvírus equino. Fonte: Paillot et al. (2008).

Já foram identificadas 12 espécies de herpesvírus que podem acometer equídeos, sendo que destas cinco são potencialmente relevantes para equinos (Quadro 1), em destaque para o herpesvírus equino tipo 1 (HVE-1) e o tipo 4 (HVE-4) (MORI, 2012; ICTV, 2016) O equino é o hospedeiro natural dos gamaherpesvírus tipos 2 e 5 e dos alfa herpesvírus tipos 1, 3 e 4, que possui espécies com ciclo replicativo curto e rápida disseminação em cultivos celulares (PATEL et al., 2005; DAVISON et al., 2009).

Os herpesvírus são agentes de fácil inativação, justamente por serem envelopados, e sensíveis a altas temperaturas, éter, pH ácido e desinfetantes à base de surfactantes, iodo, fenóis (CARVALHO, 2005).

Quadro 1. Principais espécies de herpesvírus que acometem equinos

Família	Subfamília	Gênero	Vírus	Hospedeiro	Apresentação
<i>Herpesviridae</i>	Alphaherpesvirinae	<i>Varicellovirus</i>	HVE-1	<i>Equus caballus</i>	Surtos de abortos, natimortos, mieloencefalopatia
			HVE-3	<i>Equus caballus</i>	Exantema coital
			HVE-4	<i>Equus caballus</i>	Rinopneumonite
	Gammaherpesvirinae	<i>Rhadinovirus</i>	HVE-2	<i>Equus caballus</i>	Rinite e conjuntivite (antigo citomegalovírus equino)
			HVE-5	<i>Equus caballus</i>	Não definida

Fonte: Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV, 2016) – www.ictv.com

3.1.4 Epidemiologia

Agente cosmopolita, o herpesvírus equino apresenta alta morbidade e baixa mortalidade nas criações de equinos (AGUIAR et al., 2008), onde cerca de 70% dos animais permanecem infectados por toda a vida até que alguma atividade desencadeie o estresse, favorecendo a reativação viral (SPRAYBERRY; ROBINSON, 2014).

A transmissão do HVE-1 é horizontal, ou seja, ocorre pela inalação de aerossóis ou pela ingestão de água e alimentos contaminados por secreções. A transmissão por fômites contaminados também pode ocorrer, onde se compartilham os mesmos instrumentos de trabalho com vários animais (ALLEN, 2002). A importância da transmissão venérea do HVE-1 ainda não foi bem elucidada, no entanto, sabe-se que garanhões podem ser fontes de infecção persistentes na propriedade (CARVALHO et al., 2000; HEBIAH-FELLAH et al., 2009). As principais fontes de infecção

envolvem: animais infectados, que disseminam o vírus por secreções respiratórias; fetos e restos placentários após casos de abortos; e reativações endógenas do vírus (FRANCO, 2012).

Apesar dos casos de abortos serem comuns no Brasil, têm-se poucos relatos associados à infecção herpética (NILSON; CORREA, 1966; VARGAS; WEIBLEN, 1991; MOREIRA et al., 1998; MOREIRA et al., 2000; CUNHA et al., 2000; HEINEMANN et al., 2002; SILVA, 2014). Os surtos de abortos podem ocorrer tanto isoladamente como acometer vários animais (epizoótico), podendo atingir pelo menos 10% do plantel (DIAZ, 2013).

Os fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus em equinos são multifatoriais e envolvem o agente, hospedeiro e ambiente, tais como:

- Presença do herpesvírus equino e de animais suscetíveis na mesma propriedade – prováveis fontes de infecção latentes (GOEHRING et al., 2006);
- A introdução de novos animais ao rebanho, sem a realização de quarentena, é comumente relatada após o desenvolvimento dos surtos por herpesvírus equino (GOEHRING et al., 2006; HENNINGER et al., 2007);
- Animais que são transportados com frequência para participação em provas equestres. Nessas aglomerações, são expostos ao risco de infecção (DIEL et al., 2006);
- Uso compartilhado de fômites entre animais saudáveis e suspeitos isolados;
- Não implementar ou não respeitar calendário vacinal, para todos os animais, contra a infecção herpética (KYDD et al., 2012);
- A região geográfica parece estar associada ao desenvolvimento das cepas neurogênicas, mais comumente observadas na América do Norte (STUDDERT et al., 2003).

Outros fatores de risco estão dispostos na tabela 2.

Tabela 2. Fatores de risco associados à infecção herpética

Variável	OR	Valor de p	Autor e ano
Fêmeas	2,8	0,005	Gilkerson et al. (1999)
Cavalos de tração	33,76	0,005	
Fêmea	1,76	0,005	Goehring et al. (2006)
Idade	1,14	0,005	
Febre em animais não vacinados	3,2	0,001	
Febre em animais vacinados (vacina inativada)	3,0	0,001	Goehring et al. (2010)
Infecções bacterianas associadas	10,88	0,002	Marenzoni et al. (2013)

Animal inserido à propriedade sem quarentena prévia	8,87	0,002	Galen et al. (2015)
Espécie asinina	3,89	0,03	
3-8 anos de idade	1,99	0,01	Mekonnen et al. (2017)
> 8 anos de idade	1,98	0,13	

Convenções: OR: *odds ratio*.

3.1.5 Patogenia e sinais clínicos

A infecção tem início, geralmente, pela inalação de aerossóis ou por contato com fômites contaminados. A partir de então, tem-se replicação primária no trato respiratório (células epiteliais da nasofaringe, traqueia e brônquios) e consequente lise celular (OSTLUND, 1993). Logo após, pelas vias linfática e circulatória, o herpesvírus se dissemina sistemicamente infectando linfócitos T circulantes e células do endotélio, ocasionando viremia associada a leucócitos, e alcançam os linfonodos regionais, aproximadamente, após dois dias (PAILLOT et al., 2008).

Sabe-se que a patogenia tanto do aborto como da mieloencefalite são multifatoriais, porém a fase virêmica da infecção é fundamental, desde o transporte intracelular do vírus no trato respiratório até o SNC ou útero, pois pode ocasionar sequelas importantes como quadros abortivos e/ou neurológicos (GOEHRING et al., 2011).

Os herpesvírus estão presentes nas populações equinas domésticas e selvagens e, devido sua capacidade de induzir de latência, possibilita a disseminação eficiente, tratando-se de uma forma de evasão do sistema imune do hospedeiro. Durante esse período, o animal geralmente é assintomático e pode não haver excreção viral (GREENWOOD et al., 2012). O vírus tende a permanecer em estado de latência no gânglio do nervo trigêmeo, porém, ele mantém a sua capacidade de gerar novos ciclos replicativos no hospedeiro. Este estado de quiescência dificulta tanto o diagnóstico clínico quanto o laboratorial (SÁENZ et al., 2008). Silva (2014) confirmou em estudo, em infecção experimental de *hamsters*, que o vírus não se apresentou inerte no SNC dos *hamsters* nem nos fetos equinos positivos, demonstrando intensa atividade viral no SNC, mesmo em estado de latência.

Além da latência, HVE-1 desenvolveu estratégias eficientes para evitar sua eliminação do hospedeiro, como a capacidade de regular a expressão das principais proteínas do complexo 1 em células infectadas, que resulta em evitar a lise pelas *natural-killers* (MA et al., 2012). Outro

mecanismo de evasão é a supressão da ativação linfocitária através de interações com as citocinas do hospedeiro (COOMBS et al., 2006).

É possível, inclusive, os títulos de HVE-1 estejam tão baixos, em animais com infecção crônica, que não seja possível detectar nos testes laboratoriais. Por isso, a infecção latente de HVE-1 não pode ser excluída de animais com resultados sorológicos negativos para HVE-1 (GRYSPEERDT et al., 2010). A reativação dessa infecção latente ainda não está bem esclarecida. Porém, fatores que desencadeiem o estresse nesses animais favorecem a reativação viral, tais como desmame, outras afecções, transporte, dentre outros (PATEL et al., 2005). Por estas razões, é fundamental o conhecimento regional da situação epidemiológica e da circulação dos principais agentes infecciosos associados com prejuízos econômicos à equideocultura (DIAZ, 2015), além de, a depender do caso, associar com isolamento viral, principalmente nos casos de infecção crônica (PUSTERLA et al., 2009).

O HVE-1 é cosmopolita e é considerado um dos agentes que mais causa prejuízos aos criadores de equinos, principalmente quando relatados casos de surtos de abortos. Os abortos podem ocorrer de 14 a 120 dias após a gestação, porém mais comumente observado no terço final da gestação (REED, TORIBIO, 2004). A maioria dos casos de abortos ocorrem após disfunções placentárias. A morte fetal pode resultar em abortos, com expulsão do feto do útero, ou retenção deste no útero, seja ele macerado (com alterações degenerativas após retenção no útero em ambiente não estéril) ou mumificado (quando há reabsorção do líquido do feto retido em ambiente uterino estéril) (SMITH, 2006).

Os sinais clínicos respiratórios, quando observados, são inespecíficos, tais como hipertermia (41°C), corrimento nasal seroso, congestão das mucosas nasais e conjuntivas palpebrais, e geralmente, acomete animais mais jovens. Em animais idosos, caracterizam-se as infecções subclínicas, tornando-os prováveis fontes de infecção na propriedade (LARA et al., 2003).

Nas infecções subclínicas, o herpesvírus equino se evade do sistema imune do hospedeiro pelo estabelecimento de latência. No início da infecção do trato respiratório, o HVE-1 infecta neurônios periféricos, alcançando o nervo trigêmeo 48 horas pós infecção, desencadeando uma infecção latente com persistência do DNA viral no núcleo neuronal. O DNA viral também pode persistir latentemente nos linfócitos T circulantes e no sistema linforreticular, logo após o fim da fase virêmica. Em fase latente, a expressão do genoma viral é suprimida e somente um RNA transcrito do gene IE (*immediate early*) está presente (PAILLOT et al., 2008).

O motivo desses abortos ocorrerem, normalmente, no último trimestre da gestação ainda não é bem esclarecido, mas se sabe que alguns hormônios presentes na gestação podem influenciar no quadro inflamatório da infecção por HVE-1. A progesterona (P4) tem efeito expressivo

imunossupressor justamente na última fase gestacional, além de, em altas concentrações, inibir a resposta linfocitária, assim como corticosteroides e o estrógeno (SMITH et al., 1996). Além disso, observou-se que tanto as mudanças vasculares no endométrio como a expressão de antígenos virais nas células do endotélio foram expressivamente inferiores em éguas no primeiro trimestre de gestação (LUNN et al., 2009).

Sabe-se, portanto, que a viremia é necessária para indução dos abortos, mas nem toda égua, em período virêmico, aborta. O aborto ocorre por um quadro de vasculite severa e trombose multifocal, devido às alterações causadas pelo herpesvírus equino nos vasos sanguíneos endometriais. A infecção no endométrio determina previamente o aborto, porém o feto abortado pode ser ou não infectado ainda no útero. Caso o comprometimento sanguíneo seja de curso agudo, o feto não se infecta e é expulso do útero. No entanto, se a infecção for moderada, o vírus ultrapassa a unidade uteroplacentária e determina a infecção do feto (PATEL; HELDENS, 2005). Este feto, quando abortado, contém grande quantidade de vírus e torna-se potencial via de transmissão para o plantel (OSTLUND, 1993).

No entanto, éguas que abortam, devido à infecção por herpesvírus equino tipo 1, raramente abortam novamente no ano seguinte, sugerindo que a imunidade obtida a esse agente infeccioso é complexa e possivelmente tem duração maior quando comparada à reinfecção por reativação endógena. Torna-se, por isso, difícil diferenciar devido tanto às similaridades antigênicas das cepas quanto à impossibilidade de diferenciação de reativação endógena de ativação exógena, por surto de aborto (HENNINGER et al., 2007).

Também podem ocorrer as chamadas infecções transplacentárias, que ocorrem próximas ao parto e ocasionam nascimentos de potros infectados não viáveis, que geralmente vêm à óbito dentre poucos dias. Estes casos são designados como mortalidades perinatais, na “síndrome do potro fraco” (PATEL; HELDENS, 2005).

Já a placenta pode se apresentar com aspecto normal ou levemente edemaciada. As lesões macroscópicas que podem ser observadas nos fetos são caracterizadas por edema pulmonar e/ou subcutâneo, icterícia, esplenomegalia e acúmulo de líquidos pleural e peritoneal, além de pontos necróticos multifocais, de coloração branco-acinzentada, de 1 a 5mm de diâmetro dispostos aleatoriamente (DONALDSON, 2003).

E, a depender da cepa circulante, podem ocorrer casos com sinais neurológicos. Equinos de todas as idades são suscetíveis a desenvolver sinais neurológicos decorrentes da infecção por HVE-1 (WEIBLEN, 1998). No interior dos axônios do nervo trigêmeo (forma latente), o herpesvírus equino pode atingir o SNC e desencadear alterações clínicas graves e de rápida evolução (FRAMPTON et al., 2004; PUSTERLA et al., 2009).

Além disso, o macho além de poder ser acometido e transmitir o agente infeccioso, por secreções respiratórias ou, possivelmente, pelo sêmen, pode também ter sua função reprodutiva comprometida por diversos fatores, desde disfunções sistêmicas a locais. Pode-se observar lesões no trato reprodutivo, especificamente nos órgãos genitais, ou lesões nos cascos, impedindo a monta na fêmea ou a coleta de sêmen (HEBIA-FELLAH et al., 2009). Através das lesões, tem-se uma porta de entrada para as infecções. Dentre as infecções víricas que podem acometer esses animais nos órgãos genitais, tem-se o exantema coital equino, causado pelo herpesvírus equino tipo 3. Constitui-se em dermatite na região genital de éguas e garanhões podendo, assim, ser transmitida de forma venérea. A doença é recidivante, geralmente transitória, acometendo pênis e prepúcio de garanhões (SMITH, 2006).

3.1.6 Diagnóstico

3.1.6.1 Clínico-epidemiológico

Em episódios com sinais clínicos, como em casos de surtos de abortos, o diagnóstico da infecção por herpesvírus equino pode ser realizado de acordo com os dados clínicos e evidências epidemiológicas relacionados ao manejo higiênico-sanitário e reprodutivo. O período gestacional, como o terço final da gestação, mais propício à ocorrência de abortos; sinais clínicos apresentados, principalmente observados na primo-infecção, poucas horas após o contato, ou em situações que desencadeiem quedas na imunidade do animal, ocasionado a reativação viral (OSTLUND, 1993; PUSTERLA et al., 2009). Também é imprescindível a análise de alguns fatores reprodutivos, tais como: taxa de abortos, taxa de mortalidade de potros, intervalo entre partos e taxa de fecundidade das fêmeas (MENDES, 2011). Devido à inespecificidade dos sinais clínicos, deve-se associar tais achados com testes laboratoriais confirmatórios para que se obtenha precisão no diagnóstico (OSTLUND, 1993).

3.1.6.2 Métodos diretos

O diagnóstico laboratorial, por técnicas diretas, pode ser realizado por isolamento e a identificação viral, a partir de amostras de *swabs* nasais ou de amostras de pulmão, fígado ou baço do feto abortado. Estas amostras devem ser coletadas assepticamente e acondicionadas a 4°C para, posteriormente, poder-se realizar o cultivo celular (OIE, 2008). Células das linhagens RK-13 (*rabbit-kidney cells*) e VERO (*African green monkey kidney cells*) são as mais comumente utilizadas para o cultivo de herpesvírus equino. Também podem ser utilizadas técnicas como a Imunofluorescência

direta ou imunoperoxidase, que são capazes de identificar o vírus pelo uso de anticorpos monoclonais em cortes de tecidos congelados ou células infectadas com HVE (FRANCO, 2012).

Os resultados falso-negativos ocorrem devido a diversos vários fatores, como má conservação térmica das amostras a serem analisadas (quando, por exemplo, congeladas em vez de resfriadas) ou armazenamento em formol (que faz inativação viral, não permitindo o isolamento) (LUNN et al., 2009).

Com isso, as técnicas de detecção do DNA viral facilitam o diagnóstico em amostras impróprias para isolamento. Dentre elas, tem-se a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (GALOSI et al., 2001). A PCR é uma técnica diagnóstica útil na confirmação de casos abortivos por HVE-1. Tanto é possível detectar o herpesvírus equino tipo 1 como diferenciá-lo de sua cepa antigênica similar, o herpesvírus equino tipo 4. Diversos tipos de amostras biológicas podem ser utilizadas para análise, tais como amostras clínicas, de cultivos celulares, de cortes histológicos parafinados (KIRISAWA et al., 1993) e amostras congeladas (PRADO, 2011).

3.1.6.3 Sorologia

Técnicas laboratoriais indiretas também são rotineiramente utilizadas, como os diversos testes sorológicos capazes de detectar a presença de anticorpos anti-HVE, tais como o Ensaio Imunoenzimático (ELISA), Fixação do Complemento e soroneutralização viral. ELISA indireto possui como vantagens altas sensibilidade e especificidade, rapidez e a capacidade de analisar diversas amostras ao mesmo tempo. Como desvantagens, destaca-se o custo alto de alguns kits, muitas vezes importados, e a possibilidade de resultados falso-positivos pela inespecificidade de alguns anticorpos (CARVALHO et al., 2000). Enquanto o teste de Fixação do Complemento é possível detectar anticorpos cerca de duas semanas após a primo-infecção, como as imunoglobulinas G (IgG). Além disso, possui boas sensibilidade e especificidade e permite a realização de várias amostras simultaneamente. Como desvantagens, tem-se a grande probabilidade de reações cruzadas, ocasionando falso-positivos, por diluições inadequadas ou perda da atividade do complemento, ou falso-negativos, devido à utilização de hemácias velhas, soros não adequadamente inativados ou não adição de antígenos (PAILLOT et al., 2008).

Já os anticorpos neutralizantes além de poder serem detectados em duas semanas pós a infecção, estes podem persistir por anos, facilitando sua detecção. Com a soroneutralização viral pode-se detectar estes anticorpos específicos presentes no soro capazes de, basicamente, neutralizar a infectividade do vírus, sendo uma técnica de altas sensibilidade e especificidade (BRUM; WEIBLEIN, 2012). E apesar de ser uma técnica laboriosa e não permitir diferenciação antigênica

entre cepas, HVE-1 de HVE-4, permite o diagnóstico definitivo com esta técnica por títulos altos de anticorpos, com amostras coletadas pareadas (na fase aguda e na fase convalescente, 21 dias de intervalo) e, principalmente, se forem amostras de animais sabidamente não vacinados (FOOTE et al., 2006; BRUM; WEIBLEIN, 2012).

3.1.7 Profilaxia

O controle da fase virêmica torna-se o ponto-chave na prevenção de abortos e, presumivelmente, também de doenças neurológicas. Por isso, o objetivo de qualquer programa de vacinação deve ser pautado em estimular as respostas imunes, que podem reduzir ou suprimir a fase virêmica (KYDD et al., 2006). Sabe-se que os anticorpos de mucosa podem desempenhar importante papel na prevenção da infecção do trato respiratório e na limitação da disseminação viral. Embora tenham ação curta, os anticorpos presentes na mucosa são protetores e sua secreção pode ser aumentada pela vacinação. Por isso, a vacinação pode reduzir a disseminação do HVE, via nasofaríngea, durante um surto, limitando, assim, a propagação do vírus (BREATHNACH et al., 2001). Goehring e colaboradores (2017) realizaram um experimento no qual testaram três vacinas comerciais, com intervalos de 27 a 70 dias, seguida de infecção natural 24 dias pós-exposição. Foi observado redução da disseminação viral, assim como redução de vários dias na viremia.

Como prática profilática, a vacinação continua sendo recomendada, seja a partir de vírus vivo ou de partículas virais inativadas (disponíveis comercialmente no Brasil). Porém, o que dificulta, por vezes, a sua prática é a reduzida capacidade de indução da imunidade pela vacina, além de não garantir proteção contra todas as cepas de herpesvírus equino. Por isso, recomenda-se a revacinação anual de todos os animais, incluindo fêmeas prenhes no 5º, 7º e 9º mês de gestação, além dos potros paridos de éguas vacinadas, seguindo calendário de vacinação normal, a partir dos 3 a 4 meses de idade (FRAPE, 2008; BRESGEN et al., 2012). Wagner e colaboradores (2015) observaram, após realização de protocolo com vacinas inativadas comerciais, em intervalos de 20, 60 e 90 dias, em vários grupos de equinos, que as respostas vacinais variaram nesses animais, porém sempre induzindo imunidades de curta duração, decrescentes.

Portanto, a indução de imunidade protetora continua a ser um desafio substancial. Um dos motivos é a falta de compreensão da capacidade do herpesvírus equino de interferir no sistema imunológico. Assim como os outros tipos de herpesvírus, o herpesvírus equino desenvolveu, ao longo de diversas mutações gênicas, várias estratégias de evasão imunológica, limitando as respostas imunes mediadas por anticorpos. Por isso, fala-se em imunidade humoral de curta duração seguida à infecção natural. Logo, o futuro da vacinação contra o HVE dependerá, principalmente, da

compreensão de tais estratégias evasivas realizadas pelo HVE continuamente (KOPPERS-LALIC et al., 2005; VAN DER MEULEN et al., 2006).

Para muitas outras enfermidades, a prevenção ou controle pode ser realizada pela erradicação do agente infeccioso, porém isso não é possível para o herpesvírus equino. Frente a isso, devem-se considerar alguns fatores, e colocá-los em prática, no planejamento de resposta a surtos. As medidas de controle podem ser divididas em medidas destinadas a prevenir ou reduzir a probabilidade de surtos e medidas destinadas a limitar a propagação do agente em surtos. Allen e colaboradores (2004) descreveram alguns procedimentos para prevenção de doenças neurológicas ou abortos em éguas prenhes sintetizadas no acrônimo “SISS” (SISR), onde pode-se realizar:

- Separação de éguas gestantes de todos os outros equinos nas instalações (piquetes-maternidade);
- Isolamento de todas as éguas que entram na propriedade por um período não inferior a três semanas, incluindo aquelas que estão retornando às instalações após viagens, por exemplo;
- Subdivisão das éguas prenhes em pequenos grupos, conforme período de gestação;
- Redução do estresse a fim de evitar o estresse fisiológico: mantendo estruturas sociais, evitando transportes prolongados, realocações, manejos nutricionais deficientes, parasitismos, exposições ambientais e realização de desmame em conjunto de potros.

Tais princípios podem ser estendidos para outros tipos de populações. Fundamentalmente, sendo assim, resume-se em alguns princípios fundamentais para controle do HVE:

1. Realizar o diagnóstico correto precocemente;
2. Subdividir os equinos em pequenos grupos isolados epidemiologicamente;
3. Minimizar os riscos de introdução exógena (primo-infecção) e endógena (reativação viral) de HVE (ALLEN, 2002); Adicionalmente, nos casos de abortos, deve-se incinerar o feto, membranas fetais e cama, evitando deixar quaisquer materiais contaminantes remanescentes no ambiente (OSTLUND, 1994).
4. Manejo clínico adequado dos animais infectados;
5. Maximizar a imunidade do rebanho pela vacinação (ALLEN, 2002).

A importância da detecção precoce do foco é vital pois várias intervenções específicas podem ser adotadas assim que o resultado for concluído. Enquanto isso, medidas protetivas para conter a disseminação viral são indispensáveis (HENNINGER et al., 2007).

Logo após um surto de herpesvírus equino, os desafios continuam, pois é preciso saber, por exemplo, quando retirar os animais da quarentena e como descontaminar as instalações. Recomendava-se o período de 21 dias, após a ocorrência de novos casos, sendo este período três vezes maior que a fase virêmica (sete dias). Relata-se, atualmente, um período de 28 dias, pelo fato

dos casos clínicos neurológicos poder superar os 21 dias e disseminar-se. Sabe-se, porém, que este intervalo só pode ser considerado a partir do momento que novas infecções não são mais detectadas, utilizando-se procedimentos de biossegurança (SLATER, 2007; KYDD et al., 2012).

Podem ser utilizadas estratégias alternativas à quarentena, reduzindo-se este tempo para 14 dias e realizando exames laboratoriais de todos os animais por dois a quatro dias consecutivos. No entanto, o custo *versus* benefício desta alternativa pode não ser vantajoso, pois os gastos com os exames podem ser maiores que o custo de realizar uma quarentena mais prolongada e efetiva. Já a descontaminação das instalações pode ser realizada com desinfetantes fenólicos, principalmente, mas também podem ser utilizados à base de amônia quaternária ou peróxidos. Além disso, a sobrevivência do herpesvírus equino no ambiente é bastante improvável após o intervalo de 21 a 28 dias (ALLEN et al., 2004; AINSWORTH; CHEETHAM, 2010).

CAPITULO I

Fatores de risco associados à infecção herpética em equinos

(artigo a ser submetido à Journal of Equine Veterinary Science)

1 **Fatores de risco associados à infecção herpética em equinos**

2
3 Talita D'Paula Tavares Pereira Muniz^{1*}, Maria do Carmo Custódio de Souza Hunold Lara², Eliana
4 Monteforte Cassaro Villalobos², José Wilton Pinheiro Júnior³, Ewerton Renner Gomes de Oliveira⁴,
5 Gustavo Ferrer Carneiro⁵

6
7 ¹Mestranda em Ciência Animal Tropical, UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos,
8 CEP 52171-900 – Recife/PE, Brasil

9 ²Instituto Biológico, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252 – São Paulo/SP

10 ³Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos,
11 CEP 52171-900 – Recife/PE, Brasil

12 ⁴Graduando em Medicina Veterinária, UAG/UFRPE, Av. Bom Pastor, s/n, Boa Vista, CEP 55292-270
13 - Garanhuns/PE, Brasil.

14 ⁵UAG/UFRPE, Av. Bom Pastor, s/n, Boa Vista, CEP 55292-270 - Garanhuns/PE, Brasil.

15
16
17
18 “Correspondência para:

19 talitadpaula@outlook.com, tel. +5581996845661, Rua Izaltino Poggi, 221, Gravatá/PE, Brasil.

20 E-mails dos outros autores:

21 lara@biologico.sp.gov.br

22 wiltonjrfrpe@gmail.com

23 ewerton_cumaru@hotmail.com

24 carneirogustavo1@gmail.com

1 **Abstract:** This study's objective to conduct an epidemiological investigation of herpesvirus infection
2 in horses in the microregion of the Ipojuca Valley, in the state of Pernambuco, Brazil. A viral
3 seroneutralization was performed in 322 serological samples of horses not vaccinated against
4 herpes infection, from 42 properties of 16 municipalities belonging to the Ipojuca Valley
5 Microregion. An investigative questionnaire was used to analyze the risk factors associated with
6 equine herpesvirus infection. An occurrence of 23.3% (75/322) was observed; 95% CI: 18.9-28.4%)
7 for herpes virus infection in horses. In addition, 61.9% (26/42) of the good having at least one
8 positive animal, with inter-herd variation ranging from 5 to 100%. (OR: 6.64, 95% CI: 2.66% - 16.58%)
9 and farm type (OR: 1.88; CI) and risk factors associated with infection: equine breeding with mules
10 95%: 0.99-3.57) and farms (OR: 2.76, 95% CI: 1.42-5.35). This is the first record of herpesvirus
11 infection in horses in the state of Pernambuco, Brazil. From the results obtained, it is suggested to
12 adopt prophylactic measures directed to the identified risk factors, in order to reduce the
13 occurrence of herpetic infection in the studied region.

14

15 **Keywords:** Abortion, Herpesvirus equi, EHV, prophylaxis, Seroneutralization.

16

17

INTRODUÇÃO

18 A herpesvírose equina causa impacto negativo devido a quadros clínicos de rinopneumonia,
19 principalmente em potros, afecções reprodutivas, com surtos de abortos, e, com menos frequência,
20 casos neurológicos. A detecção da infecção herpética em animais não-vacinados torna-se um
21 importante indicativo de exposição prévia a esse agente [1].

22 Esta enfermidade é considerada uma das que causam mais prejuízos para a criação de
23 equinos, principalmente quando ocorrem surtos de abortos. Além disso, a capacidade de
24 estabelecer latência, característica inerente aos herpesvírus, garante sua sobrevivência no

1 hospedeiro e a disseminação natural entre os hospedeiros [2]. A reativação do vírus latente pode
2 levar à recrudescência e resultar em transmissão viral para hospedeiros suscetíveis no rebanho. A
3 gravidade da doença clínica associada à infecção por herpesvírus equino é influenciada por uma
4 série de fatores relacionados ao ambiente e ao hospedeiro, incluindo idade, condição física e estado
5 imunológico [3].

6 A fonte de infecção em rebanhos equinos pode ser desde um animal recentemente
7 introduzido à propriedade, sem prévia realização de quarentena, a fêmeas ou garanhões
8 latentemente infectados. Os garanhões, na maioria das vezes, são negligenciados quanto à
9 vacinação, colocando em risco a proteção imunológica do rebanho, pela disseminação do vírus por
10 secreções nasais ou sêmen, apesar da transmissão venérea em equinos ainda não estar bem
11 elucidada [4]

12 Diversos estudos já foram relatados sobre infecções herpéticas, desde manifestações
13 neurológicas a casos de surtos de abortos ou mortalidade perinatal em diversos estados brasileiros,
14 como na região Sudeste, nos estados de São Paulo [5,6,7], Minas Gerais [8,9], Rio de Janeiro [10];
15 na região Sul, nos estados do Paraná [11,12], no Rio Grande do Sul [13,14]; na região Norte, nos
16 estados do Pará [15,16] e em Rondônia [17]; e na região Nordeste, apenas no estado do Ceará [18].

17 Sabe-se do expressivo poder econômico atribuído à equideocultura, importante setor do
18 agronegócio brasileiro que movimenta milhões de reais todos os anos [19]. Portanto, em vista do
19 alto valor econômico desses animais, principalmente seus produtos, é de grande importância o
20 estudo das principais enfermidades causadoras de abortos nessa espécie, a obtenção dos dados
21 epidemiológicos regionais, assim como o aprimoramento de técnicas laboratoriais que possibilitem
22 a identificação do agente a curto prazo [20].

23 Considerando-se o impacto que a herpesvirose equina causa na cadeia produtiva da
24 equideocultura, principalmente na reprodução de equinos, e devido à limitação no conhecimento

1 atual sobre a infecção herpética em equinos no agreste pernambucano, faz-se necessário o estudo
2 epidemiológico da infecção por herpesvírus equino a fim de se poder adotar as devidas medidas
3 profiláticas.

4

5

MATERIAL E MÉTODOS

6 Foi realizado estudo transversal em 42 propriedades, distribuídas nos 16 municípios
7 componentes da microrregião do Vale do Ipojuca, Pernambuco, Brasil (Figuras 1 e 2). Para o estudo
8 de ocorrência, considerou-se prevalência de 41,2% [18], com intervalo de confiança de 94% e erro
9 estatístico de 6%. Estes parâmetros forneceram um número de amostras mínimo de 260 animais.
10 Foram coletadas 322 amostras sanguíneas de equinos não vacinados contra a infecção herpética,
11 do sexo masculino e feminino, de diversas idades e raças, no período de dezembro de 2016 a
12 setembro de 2017.

13 A escolha das propriedades foi realizada por conveniência, como critério de inclusão foram
14 selecionadas propriedades sem histórico de vacinação contra a infecção herpética. Antes da coleta
15 de material biológico, aplicou-se questionário investigativo com perguntas referentes ao manejo
16 higiênico-sanitário da propriedade, visando identificar os possíveis fatores de risco associados à
17 infecção por herpesvírus equino (Tabela 2). Além dos fatores de risco, perguntou-se sobre o
18 histórico reprodutivo (Tabela 3).

19 As amostras sanguíneas foram coletadas por punção em sistema de coleta à vácuo da veia
20 jugular externa em tubos esterilizados sem anticoagulante. Para obtenção dos soros, as amostras
21 foram centrifugadas a 900 g por 10 minutos e armazenadas em tubos de polipropileno de 2 mL a -
22 20°C até a realização das provas de soroneutralização viral. As amostras foram, então, submetidas
23 ao teste de Soroneutralização viral para pesquisa de anticorpos contra o herpesvírus equino [21]. A
24 amostra viral padrão utilizada foi a A4/72 mantida no Instituto Biológico de São Paulo em células

1 VERO. Os títulos dos soros sanguíneos (expressos em log₁₀) foram considerados positivos a partir
2 da menor diluição (maior ou igual a 4) capaz de inibir 100% do efeito citopático (ECP).

3 Para o estudo dos fatores de risco associados ao herpesvírus equino, foi realizada uma
4 análise univariada das variáveis de interesse pelo teste de *qui-quadrado de Pearson*.
5 Posteriormente, uma análise de regressão logística foi realizada considerando como variável
6 dependente o exame sorológico (positivo ou negativo). As variáveis independentes ou explanatórias
7 consideradas no modelo foram aquelas que apresentarem significância estatística < 0,05. Essa
8 probabilidade estatística foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem
9 excluídos da análise [22]. O programa *Epi Info* 3.5.2 foi utilizado para a execução dos cálculos
10 estatísticos.

11 Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA), da
12 Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob o número de licença 133/2016 (Apêndice 1). Todos
13 os proprietários ficaram cientes do procedimento e assinaram, durante a coleta, o Termo de
14 Consentimento Livre e Esclarecimento (Apêndice 2).

15

16

RESULTADOS

17 Observou-se a ocorrência de 23,3% (75/322, I.C. 95% 18,9 – 28,4%) de animais positivos para
18 a infecção pelo herpesvírus equino (HVE). Além disso, 61,9% (26/42) das propriedades possuíam ao
19 menos um animal positivo, com variação entre 5 a 100% inter-rebanhos (tabela 1). Os resultados da
20 análise de fatores de risco associados à infecção pelo HVE estão dispostos na tabela 2.

21 Os fatores de risco identificados neste estudo foram: criação consorciada de equinos com
22 muares (OR: 6,64; IC 95%: 2,66-16,58) e tipo da propriedade, fazenda (OR: 1,88; IC 95%: 0,99-3,57)
23 e haras (OR: 2,76; IC 95%: 1,42-5,35).

1 Ao analisar os índices reprodutivos, observou-se associação com a infecção herpética entre:
2 a utilização de biotécnicas reprodutivas com a monta natural ($p = 0,003$); histórico de mortalidade
3 perinatal no rebanho ($p = 0,004$); o intervalo entre partos, principalmente nos casos em que o
4 intervalo superava dois anos ou mais de produção de potros ($p = 0,003$); e a sazonalidade
5 reprodutiva, com a observação de éguas que apresentaram ciclos irregulares no rebanho ($p = 0,041$)
6 (Tabela 3).

7

8

DISCUSSÃO

9 Este é o primeiro relato da infecção em equinos pelo herpesvírus equino (HVE) no estado de
10 Pernambuco. Segundo informações dos proprietários, nenhum animal foi vacinado contra o agente,
11 portanto, todas as reações são indicativas de infecção natural. A ocorrência observada é similar às
12 relatadas na região sudeste do país, no estado de São Paulo, onde foram observadas, em equinos,
13 ocorrências de 27,2% [5] e 26% [23], e no estado do Rio de Janeiro, 29,6% [10]. Na região norte, no
14 estado de Rondônia, também foi observada ocorrência semelhante, com 22,7% de animais positivos
15 para infecção herpética [17].

16 Em estudo realizado com animais hospitalizados no estado de Michigan (EUA), observou-se
17 que nenhum dos 124 equinos estudados foram positivos para herpesvírus equino [24]. Relatou-se
18 ocorrência de 23,2% de animais positivos na Turquia [25]. Observou-se ocorrência de 66,7% de
19 animais infectados contra a infecção herpética, inclusive em propriedades de criações consorciadas
20 de equinos, muares e asininos na Etiópia [26]. Tal fato pode ser explicado devido a influência dos
21 efeitos das espécies (muares e asininos), exercendo papéis de reservatório, como hospedeiros
22 alternativos para o herpesvírus equino tipo 1 (HVE-1) [27,28,29].

23 A soroprevalência, neste estudo, não foi elevada, porém observou-se elevado número de
24 propriedades com animais positivos. Os motivos podem estar relacionados a: ambientes de alto

1 estresse, fluxo contínuo de animais nessas regiões, o manejo inadequado atribuído a estes animais
2 e o fato de equinos e muares serem criados em conjunto[30]. Foi visto que a criação consorciada de
3 equinos com muares aumentou o risco de infecção nos rebanhos (OR: 6,64; IC 95%: 2,66-16,58).

4 O tipo da propriedade, seja esta fazenda (OR: 1,88; IC 95%: 0,99-3,57) ou haras (OR: 2,76; IC
5 95%: 1,42-5,35), favorece a ocorrência de animais positivos. Isso se deve, principalmente, às
6 frequentes situações que desencadeiam estresse nesses animais, como os realocamentos,
7 transportes prolongados, pelas participações em eventos equestres, a ausência de realização de
8 quarentena, assim como a não subdivisão do rebanho por faixas etárias [31], além de ausência de
9 implementação de protocolo profilático com vacinação [3].

10 O tipo de atividade desenvolvida pelas diferentes espécies e raças e o frequente
11 deslocamento podem explicar a hipótese de os equinos serem mais suscetíveis às infecções virais,
12 além do contato com outros animais em eventos esportivos, aumentando o risco de exposição e
13 disseminação [13,32].

14 Observou-se maior ocorrência da infecção herpética de acordo com o aumento da idade dos
15 animais [8,33,18]. Relatou-se maior ocorrência de animais positivos com idade entre 3 e 8 anos (OR:
16 1,99; $p= 0,01$) [26], assim como maior ocorrência entre animais entre 5 e 9 anos (70/123, 58,8%)
17 [34], em concordância ao presente estudo.

18 Relata-se que a idade é um fator determinante para o aumento da ocorrência da infecção
19 por HVE, possivelmente relacionada à maior probabilidade de exposição ao vírus [8]. As fontes mais
20 comuns de infecção por HVE são animais adultos, pelo fato de excretarem o vírus nas secreções
21 nasais após a reativação de infecções latentes [35].

22 A observação de ocorrência de positividade apenas de machos corrobora com a importância
23 do macho na cadeia epidemiológica da infecção herpética [18]. O frequente deslocamento desses
24 animais, em participações de eventos equestres pode contribuir consideravelmente para

1 disseminação do vírus. Geralmente, os ganhões são negligenciados quanto à vacinação, colocando
2 em risco a proteção imunológica do rebanho.

3 O macho também é utilizado para o melhoramento genético do rebanho, entrando em
4 contato com diversas fêmeas, facilitando, assim, sua infecção e propagação do vírus no rebanho,
5 trazendo sérias repercussões sanitárias [4]. A transmissão venérea de ganhões a fêmeas, através
6 do sêmen, ainda não está bem elucidada, porém verificou-se ocorrência de 15% de positividade em
7 amostras de sêmen fresco e congelado de equinos [36]. Tal fato foi observado na fase aguda da
8 infecção, visto que após o período virêmico, não se pode mais detectar antígenos virais no sêmen.
9 Também observaram redução na disseminação viral com protocolo profilático realizado nos
10 ganhões infectados. Os ganhões não foram utilizados para reprodução no momento da infecção
11 e, por isso, a transmissão venérea não pôde ser associada, porém, ressalta-se a necessidade de
12 testar os ganhões que servem como doadores de sêmen.

13 Uma falha comum e persistente nas propriedades é inserir um animal no rebanho sem
14 realizar, preventivamente, a quarentena seguida da realização de exames sorológicos em todo o
15 rebanho. Esta variável constitui-se como potencial fator de risco (OR: 8,87; $p = 0,002$) [37], no
16 entanto, não foi possível associar nesta pesquisa a ausência de quarentena prévia à ocorrência de
17 infecção herpética nos equinos.

18 Em relação aos índices reprodutivos, apesar de saber que vários fatores podem interferir na
19 fecundidade das fêmeas, inclusive causando surtos de abortos, não são observadas perdas efetivas
20 a longo prazo na performance reprodutiva das éguas que abortam devido à infecção herpética. As
21 éguas podem conceber, normalmente, potros viáveis e saudáveis em estações subsequentes às que
22 ocorreram abortos [38]. Foram analisados, na Itália, 67 casos de abortos e 14 casos de mortalidade
23 perinatal causados por infecção herpética, e não observaram disfunções placentárias permanentes.
24 Apenas duas éguas (2/67) abortaram novamente em estações posteriores, no entanto, todas eram

1 vacinadas regularmente contra a infecção herpética, ressaltando-se, portanto, a importância da
2 prática vacinal regular [39]. Dessa forma, recomenda-se que mais estudos sejam conduzidos em
3 contextos reprodutivos e econômicos, de modo a melhor analisar as possíveis predileções do vírus
4 aos tecidos uterinos e suas consequências na reprodução.

5 Devido essa enfermidade ser considerada uma das que mais causam prejuízos à
6 equideocultura, a prevenção e controle tornam-se imprescindíveis. A capacidade de estabelecer
7 latência garante sua sobrevivência no hospedeiro, além de segura disseminação entre os
8 hospedeiros suscetíveis no rebanho [2]. Alguns fatores devem ser observados e reavaliados, tanto
9 no manejo higiênico-sanitário como reprodutivo, sabendo-se que diversos fatores relacionados ao
10 hospedeiro, como idade, condição física e estado imunológico também podem estar relacionados
11 [3].

12 A vacinação continua sendo a forma mais eficaz de prevenir a infecção nos hospedeiros
13 suscetíveis. Inclusive, sabe-se que essa prática profilática é capaz de reduzir a disseminação do HVE,
14 via nasofaríngea, durante um surto [40,41].

15

16

CONCLUSÃO

17 Relata-se a ocorrência da infecção por herpesvírus em equinos no estado de Pernambuco,
18 associada aos fatores de risco higiênico-sanitários e reprodutivos. Sugere-se, portanto, a adoção de
19 medidas profiláticas direcionadas à identificação dos fatores de risco observados no estudo, a fim
20 de reduzir a ocorrência da infecção herpética em equinos.

21

22

REFERÊNCIAS

23 [1] Lunn, DP, Davis-Pointer, N, Flaminio, MJBF, Horohov, DW, Osterrieder, K, Pusterla, N, Townsend,
24 HGG. Equine herpesvírus-1 consensus statement. J. Vet. Intern. Med. 2009; 23: 450-461.

- 1 [2] Grinde, B. Herpesviruses: latency and reactivation - viral strategies and host response. Journal of
2 Oral Microbiology 2013; 5(1): 22766.
- 3 [3] Ma, G, Azab, W, Osterrieder, N. Equine herpesviruses type 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) – Masters of
4 co-evolution and a constant threat to equids and beyond. Veterinary Microbiology 2013; 167: 123-
5 134.
- 6 [4] Hebia-Fellah, I, Léauté, A, Fiéni, F, Zientara, S, Imbert-Marcille, M, Besse, B, Fortier, G, Pronost,
7 S, Miszezak, F, Ferry, B, Thorin, C, Pellerin, J, Bruyas, J. Evaluation of the presence of equine viral
8 herpesvírus 1 (EHV-1) and equine viral herpesvírus 4 (EHV-4) DNA in stallion sêmen using
9 polymerase chain reaction (PCR). Theriogenology 2009; 71: 1381-1389.
- 10 [5] Cunha, EMS, Ferrari, CIL, Lara, MCCSH, Silva, LHQ. Presença de anticorpos contra o herpesvírus
11 equino 1 (HVE-1) em equinos do noroeste do Estado de São Paulo. Arquivos do Instituto Biológico
12 2002; 69: 1-5.
- 13 [6] Lara, MCCSH, Cunha, EMS, Nassar, AFC, Gregory, L, Birgel, EH, Fernandes, WR. Ocorrência do
14 herpesvírus equino 1 (HVE-1) em cavalos criados no estado de São Paulo, brasil. Ars Veterinaria
15 2003; 19(3): 254-259.
- 16 [7] Mori, CMC. Avaliação da etiopatogenia da encefalite causada pelo herpesvírus equino tipo 1
17 utilizando um modelo murino de neuroinfecção. 126f. Universidade de São Paulo. Tese de
18 doutorado. 2012.
- 19 [8] Lara, MCCSH, Torelli, CS, Cunha, EMS, Villalobos, EMC, Cunha, MS, Bello, ACPP, Cunha, AP, Reis,
20 JKRP, Leite, RC, Mori, E. Inquérito sorológico da infecção por herpesvírus equino no estado de Minas
21 Gerais. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 2010; 47(5): 352-356.
- 22 [9] Moreira, FM. Manifestação neurológica por herpesvírus equino tipo 1: relato de caso. 28f.
23 Universidade Federal de Minas Gerais. Monografia de Residência em Medicina Veterinária. 2012.

- 1 [10] Diaz, KAF, Hubner, SO, Vargas, GD, Facher, G, Lienbaum, W, Lima, M. Ocorrência de anticorpos
2 contra o herpesvírus equino e vírus da arterite equina em rebanhos equinos do estado do Rio de
3 Janeiro. Cienc. Anim. Bras. 2015; 16(3): 410-418.
- 4 [11] Moreira, N, Weiss, RR, Kruger, ER. Frequência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus
5 equino tipo 1. Scientia Agraria 2000; 1(1-2): 9-14.
- 6 [12] Lara, MCCSH, Furman, KE, Barros Filho, LR, Villalobos, EMC, Cunha, EMS, Deconto, I, Bonacim,
7 J, Utime, RA, Biondo, AW. Detection of antibodies against equine viral arteritis virus (EVAV) and
8 equine herpesvírus type 1 (EHV-1) in cart horses from Curitiba and surroundings, southern Brazil.
9 Archives of Veterinary Science 2006; 11(3): 11-14.
- 10 [13] Diel, DG, Almeida, SR, Weiblen, R, Frandoloso, R, Anziliero, D, Kreutz, LC, Groff, FHS, Flores, EF.
11 Prevalência de anticorpos contra os vírus da influenza, da arterite viral e herpesvírus em equinos do
12 Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência Rural 2006; 36(5): 1467-1673.
- 13 [14] Sangioni, LA, Bottom, SA, Cargnelutti, JF, Cadore, GC, Cezar, AS, Weiblen, R, Lopes, STA, Vogel,
14 FSF. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora* spp. e anti-herpesvírus equino em cavalos de tração no
15 município de Santa Maria, RS, Brasil. Ciência Rural 2011; 41(2).
- 16 [15] Heinemann, MN, Cortez, A, Souza, MCC, Gotti, T, Ferreira, F, Homem, VSF, Ferreira Neto, JS,
17 Soares, RM, Sakamoto, SM, Cunha, EMS, Richtzenhain, LJ. Soroprevalência da anemia infecciosa
18 equina, da arterite viral dos equinos e do aborto viral equino no município de Uruará, PA, Brasil.
19 Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science 2002; 39(1): 50-53.
- 20 [16] Pena, L.J, Pena, DA, Barrios, PR, Dale, R, Lamêgo, MRA, Moraes, MP. Levantamento soro-
21 epidemiológico da infecção pelo vírus da Anemia Infecciosa Equina, da Influenza Equina-2 e do
22 Herpesvírus Equino-1 em rebanhos do sul do Estado do Pará, Brasil. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 2006;
23 43(4): 537-542.

- 1 [17] Aguiar, DM, Cavalcante, GT, Lara, MCCSH, Villalobos, EMC, Cunha, EMS, Okuda, LH, Stefano, E,
2 Nassar, AFC, Souza, GO, Vasconcellos, SA, Labruna, MB, Camargo, LMA, Gennari, SM. Prevalência
3 de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do município de Monte Negro,
4 Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci 2008; 45(4): 269-276.
- 5 [18] Alencar-Araripe, MG, Maia, DCSC, Campelo, CC, Silva Júnior, A, Silva, MC, Dias, AV, Medeiros,
6 CMO, Nunes-Pinheiro, DCS. Evidências sorológicas de EHV-1/EHV-4 em cavalos de vaquejada no
7 estado do Ceará, Brasil. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal 2014; 8(2): 203-217.
- [19] CNA. CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. A equinocultura brasileira
inserida no agronegócio. 2010. Disponível em: <<http://www.cna.org.br>>. Acesso em: 11.Mar.2018.
- 8 [20] Silva, AA. Gestão sanitária do abortamento e mortalidade perinatal em equinos: *Leptospira* e
9 Herpesvírus equino -1 como agentes causais. 133f. Instituto Biológico. Dissertação de mestrado.
10 2014.
- 11 [21] Kotait, I, Peixoto, ZMP, Queiroz, LH, Cunha, EMS, Souza, MCAM, Macruz, R, Freitas, CA.
12 Diagnóstico laboratorial do aborto equino a vírus através de imunofluorescência e
13 soroneutralização. Revista de Microbiologia 1989; 20(1): 128-132.
- 14 [22] Hosmer, DW, Lemeshow, S. Applied logistic regression. 2ª ed. New York: Wiley–Interscience
15 Publication, 1987.
- 16 [23] Cunha, EMS, Villalobos, EMC, Nassar, AFC, Lara, MCCSH, Peres, NF, Palazzo, JPC, Silva, A,
17 Stefano, E, Pino, FA. Prevalência de anticorpos contra agentes virais em equinos no sul do estado
18 de São Paulo. Arq. Inst. Biol. 2009; 76(2): 165-171.
- 19 [24] Carr, E, Schott, H., PUSTERLA, N. Absence of equid herpesvirus-1 reactivation and viremia in
20 hospitalized critically ill horses. Journal of Veterinary Internal Medicine 2011; 25: 1190-1193.

- 1 [25] Ataseven, VS, Bilge-Dağalp, S, Başaran, Z, Keskin, S. Seroepidemiological studies of equine
2 herpesvirus 1 and 4 infections in working horses from eastern Turkey. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.
3 2010; 57: 39–42.
- 4 [26] Mekonnen, A, Eshetu, A, Gizaw, D. Equine herpesvirus 1 and/or 4 in working equids:
5 seroprevalence and risk factors in North Shewa Zone, Ethiopia. Ethiop. Vet J. 2017; 21(2): 28-39.
- [27] Wilson, WD, Pusterla, N. Equine Herpesvirus 1 Myeloencephalopathy. 2^a Ed. In: Reed, SM,
Bayly, WM, Sellon, DC, Equine Internal Medicine, Kentucky: Elsevier; 2004, p. 1025-1168.
- 6 [28] Goehring, LS, Winden, SC, MAANEN, CV. Equine herpesvirus type 1-associated
7 myeloencephalopathy in The Netherlands: a four year retrospective study (1999-2003). J. Vet.
8 Intern. Med. 2006; 20: 601-607.
- 9 [29] Barbic, L, Lojkic, I, Stevanovic, V, Bedekovic, T, Staresina, V, Lemo, N, Lojkic, M, Madic, J. Two
10 outbreaks of neuropathogenic equine herpesvirus type–1 with breed-dependent clinical signs. Vet.
11 Rec. 2012; 170: 227.
- 12 [30] Yildirim, Y, Yilmaz, V, Kirmizigul, AH. Equine herpes virus type 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) infections
13 in horses and donkeys in northeastern Turkey. Iran J Vet Res. 2015; 16(4): 341-344.
- 14 [31] Allen, GP, Kydd, JH, Slater, JD. Equid herpesvirus 1 and equid herpesvirus 4 infections. In:
15 Coetzer, JAW. Infections Diseases of Livestock. 1^a ed., Capetown: Ed. Oxford University Press; 2004,
16 p. 829-859.
- 17 [32] Ataseven, VS, Dağalp, SB, Güzel, M, Başaran, Z, Tan, MT, Geraghty, B. Prevalence of equine
18 herpesvirus-1 and equine herpesvirus-4 infections in equidae species in Turkey as determined by
19 ELISA and multiplex nested PCR. Res Vet Sci. 2009; 86(2):339-44.
- 20 [33] Pusterla, N, Mapes, S, Wilson, WD. Prevalence of latent alphaherpesviruses in Thoroughbred
21 racing horses. The Veterinary Journal 2012; 193: 579–582.

- 1 [34] Traub-Dargatz, JL, Pelzel-McCluskey, AM, Creekmore, LH, Geiser-Novotny, S, Kasari, TR,
2 Wiedenheft, AM, Bush, EJ, Bjork, KE. Case-control study of a multistate equine herpesvirus
3 myeloencephalopathy outbreak. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2013; 27: 339–346.
- 4 [35] Henninger, RW, Reed, SM, Saville, WJ, Allen, GP, Hass, GF, Kohn, CW, Sofaly, C. Outbreak of
5 neurologic disease caused by equine herpesvirus-1 at a university equestrian center. *J. Vet. Intern.
6 Med.* 2007; 21: 157-165.
- 7 [36] Walter, J, Balzer, H-J, Seeh, C, Fey, K, Bleul, U, Osterrieder, N. Venereal shedding of equid
8 herpesvirus-1 (EHV-1) in naturally infected stallions. *J. Vet. Intern. Med.* 2012; 26(6): 1500-4.
- 9 [37] Galen, G, Leblond, A, Tritz, P, Martinelle, L, Pronost, S, Saegerman, C. A retrospective study on
10 equine herpesvirus type-1 associated myeloencephalopathy in France (2008-2011). *Veterinary
11 Microbiology* 2015; 179: 304-309.
- 12 [38] Schulman, ML, Kass, PH, Becker, A, Van Der Merwe, B, Schulman, ML. A predictive model for
13 reproductive performance following abortion in thoroughbred mares. *Vet. Rec.* 2013; 172(2): 44.
- 14 [39] Marenzoni, ML, Lepri, E, Proietti, PC, Bietta, A, Coletti, M, Timoney, PJ, Passamonti, F. Causes
15 of equine abortion, stillbirth and neonatal death in Central Italy. *Veterinary Record* 2012; 170: 260.
- 16 [40] Breathnach, CC, Yeargan, MR, Sheoran, AS, Allen, GP. The mucosal humoral immune response of
17 the horse to infective challenge and vaccination with equine herpesvirus-1 antigens. *Equine Vet. J.*
18 2001; 33: 651-657.
- 19 [41] Goehring, LS, Brandes, K, Ashton, LV, Wittenburg, LA, Olea-Popelka, FJ, Lunn, DP; Soboll Hussev,
20 G. Anti-inflammatory drugs decrease infection of brain endothelial cells with EHV-1 in vitro. *Equine
21 Vet. J.* 2017; 49(5): 629-636.

1 **Tabela 1.** Ocorrência de anticorpos anti-HVE em equinos da microrregião do Vale do Ipojuca.

SN Cidade	Positivo		Negativo		Total
	F.A	F.R.%	F.A.	F.R.%	
Alagoinha	0	0%	19	100%	19
Belo Jardim	10	50%	10	50%	20
Bezerros	7	26,9%	19	73,1%	26
Brejo da Madre de Deus	5	25%	15	75%	20
Cachoeirinha	3	15%	17	85%	20
Capoeiras	1	4,7%	20	95,3%	21
Caruaru	8	36,3%	14	63,7%	22
Gravatá	14	48,2%	15	51,8%	29
Jataúba	5	33,3%	10	66,7%	15
Pesqueira	4	23,5%	13	76,4%	17
Poção	1	5%	19	95%	20
Riacho das Almas	6	30%	14	70%	20
Sanharó	1	6,2%	15	93,8%	16
São Bento do Una	4	20%	16	80%	20
São Caetano	5	21,7%	18	78,3%	23
Tacaimbó	1	7,1%	13	92,9%	14

2 Convenções: F.A. – Frequência Absoluta; F.R. – Frequência Relativa; SN – Soroneutralização.

3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20

1 **Tabela 2.** Fatores de risco associados à infecção herpética em equinos no estado de Pernambuco.

Variável	N	SN Positivo (%)	Valor de p	Regressão Logística		
				OR	IC 95%	Valor de p
Sexo						
Fêmea	159	42 (26,4%)	0,119	0,70	0,42 – 1,18	0,191
Macho	163	33 (20,2%)				
Tipo de exploração						
Equinos	283	59 (20,8%)			-	
Equinos e muares	22	14 (63,6%)	0,000	6,64	2,66 – 16,58	0,000
Equinos e asininos	17	2 (11,8%)		0,50	0,11 – 2,27	0,374
Sistema de criação						
Intensivo	136	27 (19,9%)	0,240			
Semi-intensivo	136	38 (27,9%)				
Extensivo	50	10 (20,0%)				
Finalidade da criação de equinos						
Reprodução	36	8 (22,2%)	0,655			
Esportes	170	36 (21,2%)				
Esportes + Reprodução	115	31 (27,0%)				
Lazer	1	-				
Tipo de propriedade						
Sítio, Chácara ou Rancho	137	21 (15,3%)			-	
Fazenda	106	27 (25,5%)	0,008	1,88	0,99 – 3,57	0,050
Haras	78	26 (33,3%)		2,76	1,42 – 5,35	0,002
Zona						
Rural	273	67 (24,5%)	0,141	0,59	0,26 – 1,34	0,214
Urbana	49	8 (16,3%)				
Fonte de água						
Água tratada	45	13 (28,9%)	0,218			
Água não tratada	277	62 (22,4%)				
Fornece sal mineral						
Sim	193	48 (24,9%)	0,247			
Não	129	27 (20,9%)				
Sal mineral específico para equinos						

Sim	193	48 (24,9%)	0,247
Não	129	27 (20,9%)	

Limpeza de baias, cochos e comedouros

Diária	194	52 (26,8%)	
A cada 2 dias	12	1 (8,3%)	
3 vezes por semana	29	5 (17,2%)	0,389
1 vez por semana	63	13 (20,6%)	
Não se aplica	23	4 (17,4%)	

Destino dos restos placentários/ fetos abortados

Lixo comum	21	3 (14,3%)	
Ambiente	177	45 (25,4%)	0,416
Incinerar e enterrar	103	22 (21,4%)	
Outros	4	-	

Realiza quarentena

Sim	28	8 (28,6%)	
Não	294	67 (22,8%)	0,314

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10

- 1 **Tabela 3.** Histórico reprodutivo associado à infecção herpética em equinos no estado de
 2 Pernambuco.

Variável	N	SN	P
Técnicas reprodutivas			
Monta natural	214	39 (18,2%)	0,003
Biotécnicas	53	21 (39,6%)	
MN + Biotécnicas	39	10 (25,6%)	
Casos de aborto na propriedade			
Sim	122	41 (33,6%)	0,000
Não	183	29 (15,8%)	
Mortalidade perinatal			
Sim	63	23 (36,5%)	0,004
Não	244	48 (19,7%)	
Taxa de fecundidade			
1 potro por ano	122	36 (29,5%)	0,239
1 potro a cada 2 anos	25	5 (20,0%)	
Mais de 2 anos de intervalo	5	-	
Tempo de gestação (média)			
320-335 dias	136	41 (30,1%)	0,004
> 335 dias	16	-	
Sazonalidade reprodutiva			
Éguas com ciclos regulares	105	34 (32,4%)	0,041
Éguas com ciclos irregulares	45	6 (13,3%)	
Éguas jovens que não ciclam	2	1 (50,0%)	
Intervalo entre partos			
Anual	95	20 (21,1%)	0,003
Entre 1 e 2 anos	28	6 (21,1%)	
Superior a 2 anos	29	15 (51,7%)	
Ocorrência de partos auxiliados			
Sim	7	-	0,106
Não	146	41 (28,1%)	

**Idade ao primeiro filho
(garanhões)**

4 anos	124	32 (25,8%)	
4-8 anos	76	16 (21,1%)	0,473
8-12 anos	2	-	
Outros	11	1 (9,1%)	

**Idade ao último filho
(garanhões)**

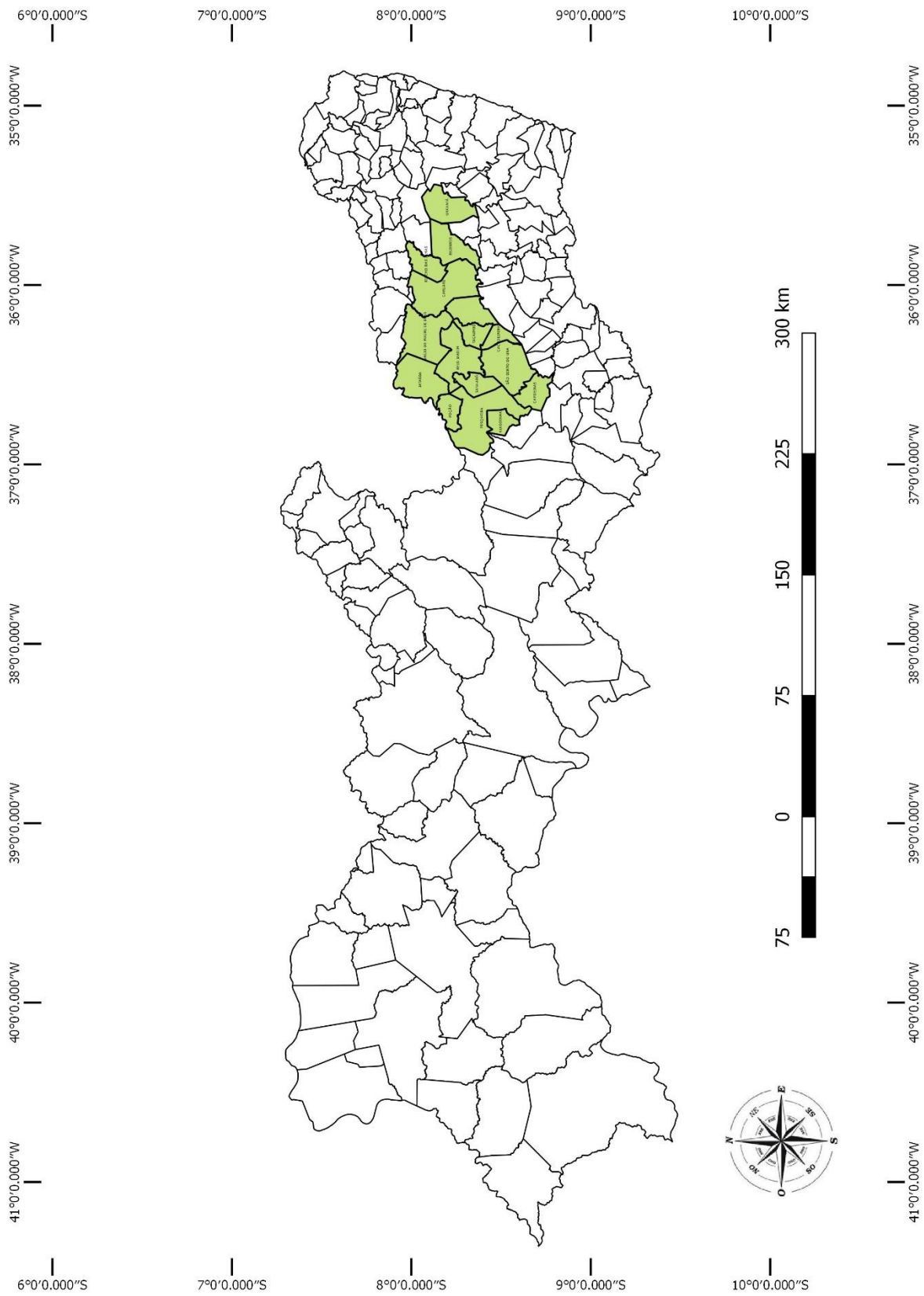
4-8 anos	9	1 (11,1%)	0,455
8-12 anos	55	12 (21,8%)	
> 12 anos	114	28 (24,6%)	
Outros	13	1 (7,7%)	

Nº de filhos (garanhões)

Até 20	154	35 (22,7%)	0,788
20-40	19	3 (15,8%)	
40-60	18	4 (22,2%)	

1 SN: soroneutralização.

2



1

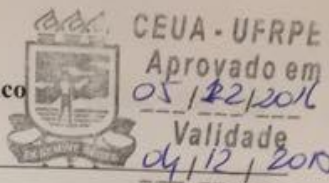
2 **Figura 1.** Área de estudo, microrregião do Vale do Ipojuca – Pernambuco, Brasil.

3

1 APÊNDICE 1



VAG
Universidade Federal Rural de Pernambuco
 Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n,
 Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE

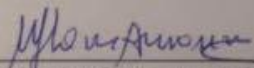



Comissão de ética no uso de animais – CEUA- H- 20

Licença para o uso de animais em experimentação e/ou ensino

O Comitê de ética no uso de animais CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no uso de suas atribuições, autoriza a execução do projeto discriminado abaixo. O presente projeto também se encontra de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11794/2008.

Número da licença	133/ 2016
Número do processo	23082/021868/2016-24
Data de emissão da licença	05 de dezembro de 2016
Título do Projeto	Inquérito epidemiológico da infecção por Herpesvírus equino e parâmetros reprodutivos relacionados em equinos do Agreste Pernambucano.
Finalidade (Ensino, Pesquisa, Extensão)	Pesquisa
Responsável pela execução do projeto	Gustavo Ferrer Carneiro
Colaboradores	José Wilton Pinheiro Júnior
Tipo de animal e quantidade total autorizada	Equideo: : 150 Fêmeas e 150 Machos; ; 6 meses; 200-700Kg Total : 300


 Prof. Dra. Marleyne José Afonso Accioly Lins Amorim
 (Coordenadora da CEUA-UFRPE)

 Prof. Dra. Marleyne Amorim
 Coordenadora CEUA

APÊNDICE 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da Pesquisa intitulada “**Inquérito epidemiológico da infecção por Herpesvírus equino e parâmetros reprodutivos relacionados em equinos do Agreste pernambucano**”, sob a responsabilidade do pesquisador Gustavo Ferrer Carneiro, a qual pretende realizar um estudo epidemiológico sobre a infecção por Herpesvírus em equinos da Microrregião do Vale do Ipojuca do estado de Pernambuco. Sua participação com os animais de sua propriedade é voluntária e se dará por meio da coleta de soro sanguíneo dos animais e coleta de informações sobre o manejo higiênico-sanitário e reprodutivo do plantel.

Os riscos decorrentes da participação dos seu (s) animal (is) na pesquisa são de Grau de Invasividade I, **causam pouco ou nenhum desconforto ou estresse**. Se você aceitar participar, os resultados decorrentes do estudo com seu (s) animal (is) estará (ão) contribuindo para controlar a ocorrência da infecção por Herpesvírus equino.

Se depois de consentir em sua participação o (a) Sr (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem prejuízo a sua pessoa.

O (a) Sr (a) não terá despesas e também não receberá remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade e de seu (s) animal (is) não serão divulgadas, sendo guardada em sigilo. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço Avenida Bom Pastor, s/n, Boa Vista, CEP 55292-170, Garanhuns-PE.

Consentimento Pós-Infomação

Eu, _____, fui informado sobre o projeto “**Inquérito epidemiológico da infecção por Herpesvírus equino e parâmetros reprodutivos relacionados em equinos do Agreste pernambucano**” que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser.

Este documento foi emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

Data: ____/____/____

Assinatura do participante
Impressão do dedo polegar
Caso não saiba assinar

Assinatura do Pesquisador Responsável

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A herpesvirose equina é uma infecção que acomete equinos na microrregião do Vale do Ipojuca, no estado de Pernambuco. A partir deste estudo, pode-se dizer que é necessária a realização de novos estudos que estimem as perdas econômicas ocasionadas pela infecção herpética, associadas a problemas reprodutivos.

Diante dos resultados obtidos, os fatores de risco identificados são importantes para direcionar as medidas profiláticas que visem o controle da herpesvirose no rebanho. Diagnóstico precoce e manejo higiênico-sanitário e reprodutivo adequado são imprescindíveis para evitar a propagação do vírus e diminuir a ocorrência da herpesvirose equina, reduzindo os impactos na equideocultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; LARA, M. C. C. S. H.; VILLALOBOS, E. M. C.; CUNHA, E. M. S.; OKUDA, L. H.; STEFANO, E.; NASSAR, A. F. C.; SOUZA, G. O.; VASCONCELLOS, S. A.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. (2008). Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*, 45 (4): 269-276.

AINSWORTH, D. M.; CHEETHAM, J. Equine herpesvirus types 1 and 4. In: REED, S.M.; BAYLY, W.M.; SELLON, D.C. *Equine Internal Medicine*, 3. Ed., Saunders, 2010. 1485p.

ALENCAR-ARARIPE, M. G.; MAIA, D. C. S. C.; CAMPELO, C. C.; SILVA JÚNIOR, A.; SILVA, M. C.; DIAS, A. V.; MEDEIROS, C. M. O.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S. (2014). Evidências sorológicas de EHV-1/EHV-4 em cavalos de vaquejada no estado do Ceará, Brasil. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 8 (2): 203-217.

ALLEN, G. P. (2002). Epidemic disease caused by equine herpesvírus-1: recommendations for prevention and control. *Equine Veterinary Education*, 14 (3): 136-142.

ALLEN, G. P.; KYDD, J. H.; SLATER, J. D. (2004). Equid herpesvírus 1 and equid herpesvírus 4 infections. In: COETZER, J. A. W. *Infections Diseases of Livestock*. 1ª ed., p. 829-859, Ed. Oxford University Press.

BECK, S. L.; CINTRA, A. G. (2011). *Treinamento específico e/ou condicionamento físico. Araucária. (Manual de Gerenciamento Equestre).*

BREATHNACH, C. C.; YEARGAN, M. R.; SHEORAN, A. S.; ALLEN, G. P. (2001). The mucosal humoral immune response of the horse to infective challenge and vaccination with equine herpesvírus-1 antigens. *Equine Vet. J.*, 33: 651-657.

BRESGEN, C.; LAMMER, M.; WAGNER, B.; OSTERRIEDER, N.; DAMIANI, A. M. (2012). Serological responses and clinical outcome after vaccination of mares and foals with equine herpesvírus type 1 and 4 (EHV-1 and EHV-4) vaccines. *Vet. Microb.*, 160 (-12): 9-16.

BRUM, M. C. S.; WEIBLEIN, R. (2012). Detecção, identificação e quantificação de vírus. In: FLORES, E. F. Virologia Veterinária, Cap. 3, p. 59-86. Ed. UFSM.

CARVALHO, R. F.; PASSOS, L. M. F.; GOUVEA, A. M. G.; RESENDE, M.; MARTINS, A. S.; FRANCO, G. C. (2000). Use of an ELISA system for detection of equine herpesvirus 1 (EHV-1) antibodies in non-symptomatic pregnant mares and neonatal foals. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 52 (3).

CARVALHO, R. F. Caracterização genômica de isolados brasileiros do herpesvírus equino do tipo 1. 2005. 62p. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

CNA. CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. A equinocultura brasileira inserida no agronegócio, 2010. Disponível em: <<http://www.cna.org.br>>. Acesso em: 11.Mar.2018.

COOMBS, D. K.; PATTON, T.; KOHLER, A. K.; SOBOLL, G.; BREATHNACH, C.; TOWNSEND, H. G. G.; LUNN, D. P. (2006). Cytokine responses to EHV-1 infection in immune and non-immune ponies. Veterinary Immunology and Immunopathology, 111(1-2): 109-116.

CUNHA, E. M. S.; FERRARI, C. I. L.; LARA, M. C. C. S. H.; SILVA, L. H. Q. (2002). Presença de anticorpos contra o herpesvírus equino 1 (HVE-1) em equinos do noroeste do Estado de São Paulo. Arquivos do Instituto Biológico, 69: 1-5.

CUNHA, E. M. S.; VILLALOBOS, E. M. C.; NASSAR, A. F. C.; LARA, M. C. C. S. H.; PERES, N. F.; PALAZZO, J. P. C.; SILVA, A.; STEFANO, E.; PINO, F. A. (2009). Prevalência de anticorpos contra agentes virais em equinos no sul do estado de São Paulo. Arq. Inst. Biol., 76 (2): 165-171.

DAVISON, A. J.; EBERLE, R.; EHLERS, B.; HAYWARD, G. S.; McGEOCH, D. J.; MINSON, A. C.; PELLETT, P. E.; ROIZMAN, B.; STUDDERT, M. J.; THIRY, E. (2009). The order *Herpesvirales*. Arch. Virol., 154: 171-177.

DIAZ, K. A. F. Ocorrência de anticorpos contra o herpesvírus equino e vírus da arterite equina em tropas do estado do Rio de Janeiro. 2013. 73p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Veterinária.

DIAZ, K. A. F.; HUBNER, S. O.; VARGAS, G. D.; FACHER, G.; LIENBAUM, W.; LIMA, M. (2015). Ocorrência de anticorpos contra o herpesvírus equino e vírus da arterite equina em rebanhos equinos do estado do Rio de Janeiro. *Cienc. Anim. Bras.*, 16 (3): 410-418.

DIEL, D. G.; ALMEIDA, S. R.; WEIBLEN, R.; FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D.; KREUTZ, L. C.; GROFF, F. H. S.; FLORES, E. F. (2006). Prevalência de anticorpos contra os vírus da influenza, da arterite viral e herpesvírus em equinos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, 36 (5): 1467-1673.

DIMOCK, W. W.; EDWARDS, P. R. (1933). Is there a filterable virus of abortion in mares? *Kentucky Agricultural Experiment Station, Supplement*, 333: 297-301.

DIMOCK, W. W.; EDWARDS, P. R.; BRUNER, D. W. (1947). Infections observed in equine fetuses and foals. *The Cornell Veterinarian*, 347 (2): 89-99.

DOLL, E. R.; CROWE, M. E.; MCCOLLUM, W. H.; BRYANS, J. T. (1959). In vitro serum neutralization of hamster-propagated equine rhinopneumonitis virus. *The Cornell Veterinarian*, 49 (1): 28-33.

DONALDSON, M. T. (2003). Equine Herpesvirus. In: ROBINSON, N. E. *Current therapy in equine medicine* 5, p. 38-42, Ed. Saunders.

FAO. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. FAOSTAT – 2010 [Internet]. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. Acesso em: 11.Mar.2018.

FERNANDES, W. R. Determinação da infecção por herpesvírus equino tipo-1 em animais criados no estado de São Paulo, através da reação de fixação do complemento. 1988. 64p. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

FOOTE, C. E.; RAIDAL, S. L.; PECENPETELOVSKA, G.; WELLINGTON, J. E.; WHALLEY, J. M. (2006). Inoculation of mares and very young foals with EHV-1 glycoproteins D and B reduces

virus shedding following respiratory challenge with EHV-1. *Vet. Immun. Immunopath.*, (111): 97-108.

FORTIER, G.; ERCK, E.; FORTIER, C.; RICHARD, E.; POTTIER, D.; PRONOST, S.; MISZCZAK, F.; THIRY, E.; LEKEUX, P. (2009). Herpesviruses in respiratory liquids of horses: Putative implication in airway inflammation and association with cytological features. *Veterinary Microbiology*, 139: 34-41.

FRAMPTON, A. R.; SMITH, P. M.; ZHANG, Y.; GRAFTON, W. D.; MATSUMURA, T.; OSTERRIEDER, N.; O'CALLAGHAN, D. J. (2004). Meningoencephalitis in mice infected with an equine herpesvirus 1 strain KyA recombinante expressing glycoprotein I and glycoprotein E. *Virus Genes*, 29 (1): 9-17.

FRANCO, A. C.; ROEHE, P. R.; FLORES, E. F. (2007). Herpesviridae. *Virologia Veterinária*, 435-488.

FRANCO, A. C. (2012). Herpesviridae. In: FLORES, E. F. *Virologia Veterinária*, 433-477.

FRAPE, D. (2008). *Nutrição & Alimentação de Equinos*. 3ª ed., Ed. Roca Ltda.

GALEN, G.; LEBLOND, A.; TRITZ, P.; MARTINELLE, L.; PRONOST, S.; SAEGERMAN, C. (2015). A retrospective study on equine herpesvirus type-1 associated myeloencephalopathy in France (2008-2011). *Veterinary Microbiology*, 179: 304-309.

GALOSI, C. M.; VILA ROSA, M. V.; OLIVA, G. A.; PECORARO, M. R.; ECHEVERRÍA, M. G.; CORVA, S.; ETCHEVERRIGARAY, M. E. (2001). A polymerase chain reaction for detection of equine herpesvirus-1 in routine diagnostic submissions of tissues from aborted fetuses. *J. Vet. Med. B.*, 48: 341-346.

GILKERSON, J. R.; WHALLEY, J. M.; DRUMMER, H. E.; STUDDERT, M. J.; LOVE, D. N. (1999). Epidemiology of EHV-1 and EHV-4 in the mare and foal populations on a Hunter Valley stud farm: are mares the source of EHV-1 for unweaned foals? *Veterinary Microbiology*, 68: 27-34.

GOEHRING, L. S.; WINDEN, S. C. V.; MAANEN, C. V. (2006). Equine herpesvirus type 1-associated myeloencephalopathy in The Netherlands: a four year retrospective study (1999-2003). *J. Vet. Intern. Med.*, 20: 601-607.

GOEHRING, L. S.; WAGNER, B.; BIGBIE, R.; HUSSEY, S. B.; RAO, S.; MORLEY, P. S.; LUNN, D. P. (2010). Control of EHV-1 viremia and nasal shedding by commercial vaccines. *Vaccine*, 28: 5203-5211.

GOEHRING, L. S.; HUSSEY, G. S.; ASHTON, L. V.; SCHENKEL, A. R.; LUNN, D. P. (2011). Infection of central nervous system endothelial cells by cell-associated EHV-1. *Vet. Microb.*, (148): 389-395.

GOEHRING, L. S.; BRANDES, K.; ASHTON, L. V.; WITTENBURG, L. A.; OLEA-POPELKA, F. J.; LUNN, D. P.; SOBOLL HUSSEV, G. (2017). Anti-inflammatory drugs decrease infection of brain endothelial cells with EHV-1 in vitro. *Equine Vet. J.*, 49 (5): 629-636.

GREENWOOD, A. D.; TSANGARAS, K.; HO, S. Y. W.; SZENTIKS, C. A.; NIKOLIN, V. M.; MA, G.; DAMIANI, A.; EAST, M. L.; LAWRENZ, A.; HOFER, H.; OSTERRIEDER, N. (2012). A potentially fatal mix of herpes in Zoos. *Current Biology*, 22: 1-5.

GRINDE, B. (2013). Herpesviruses: latency and reactivation - viral strategies and host response. *Journal of Oral Microbiology*, 5 (1), 22766.

GRYSPEERDT, A. C.; VANDEKERCKHOVE, A. P.; GARRÉ, B.; BARBÉ, F.; VAN DE WALLE, G. R.; NAUWYNCK, H. J. (2010). Differences in replication kinetics and cell tropismo between neurovirulent and non-neurovirulent EHV1 strains during the acute phase of infection in horses. *Veterinary Microbiology*, 142 (3-4): 242-253.

HEBIA-FELLAH, I.; LÉAUTÉ, A.; FIÉNI, F.; ZIENTARA, S.; IMBERT-MARCILLE, B.; BESSE, B.; FORTIER, G.; PRONOST, S.; MISZEZAK, F.; FERRY, B.; THORIN, C.; PELLERIN, J.; BRUYAS, J. (2009). Evaluation of the presence of equine viral herpesvirus 1 (EHV-1) and equine viral herpesvirus 4 (EHV-4) DNA in stallion sêmen using polymerase chain reaction (PCR). *Theriogenology*, 71: 1381-1389.

HEINEMANN, M. N.; CORTEZ, A.; SOUZA, M. C. C.; GOTTI, T.; FERREIRA, F.; HOMEM, V. S. F.; FERREIRA NETO, J. S.; SOARES, R. M.; SAKAMOTO, S. M.; CUNHA, E. M. S.; RICHTZENHAIN, L. J. (2002). Soroprevalência da anemia infecciosa equina, da arterite viral dos equinos e do aborto viral equino no município de Uruará, PA, Brasil. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*, 39 (1): 50-53.

HENNINGER, R. W.; REED, S. M.; SAVILLE, W. J.; ALLEN, G. P.; HASS, G. F.; KOHN, C. W.; SOFALY, C. (2007). Outbreak of neurologic disease caused by equine herpesvirus-1 at a university equestrian center. *J. Vet. Intern. Med.*, 21: 157-165.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2016. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?&t=material-de-apoio>>. Acesso em: 21. Dez. 2017.

ICTV – Comitê Internacional de Taxonomia Viral. (2016). Disponível em: <<https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/m/msl/6776>>. Acesso em: 17. Jan. 2018.

KIRISAWA, R.; ENDO, A.; IWAI, H.; KAWAKAMI, Y. (1993). Detection and identification of equine herpesvirus-1 and 4 by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 36: 56-67.

KOTAIT, I.; PEIXOTO, Z. M. P.; QUEIROZ, L. H.; CUNHA, E. M. S.; SOUZA, M. C. A. M.; MACRUZ, R.; FREITAS, C. A. (1989). Diagnóstico laboratorial do aborto equino a vírus através de imunofluorescência e soroneutralização. *Revista de Microbiologia*, 20 (1): 128-132.

KOPERS-LALIC, D.; REITS, E. A.; RESSING, M. E.; LIPINSKA, A. D.; ABELE, R.; KOCH, J.; REZENDE, M. M.; ADMIRAAL, P.; LEEUWEN, D.; BIENKOWSKA-SZEWCZYK, K.; METTENLEITER, T. C.; RIJSEWIJK, F. A. M.; TAMPÉ, R.; NEEFJES, J.; WIERTZ, E. J. H. J. (2005). Varicelloviruses avoid T cell recognition by UL49.5-mediated inactivation of the transporter associated with antigen processing. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 102: 5144-5149.

KYDD, J. H.; TOWNSEND, H. G.; HANNANT, D. (2006). The equine immune response to equine herpesvirus-1: The virus and its vaccines. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 111: 15-30.

KYDD, J. H.; SLATER, J.; OSTERRIEDER, N.; LUNN, D. P.; ANTCZAK, D. F.; AZAB, W.; BALASURIYA, U.; BARNETT, C.; BROSNAHAN, M.; COOK, C. (2012). Third International Havemeyer Workshop on equine herpesvirus type 1. *Equine Veterinary Journal*, 44: 513-517.

LARA, M. C. C. S. H.; CUNHA, E. M. S.; NASSAR, A. F. C.; GREGORY, L.; BIRGEL, E. H.; FERNANDES, W. R. (2003). Ocorrência do herpesvírus equino 1 (HVE-1) em cavalos criados no estado de São Paulo, Brasil. *Ars Veterinaria*, 19 (3): 254-259.

LARA, M. C. C. S. H.; FURMAN, K. E.; BARROS FILHO, L. R.; VILLALOBOS, E. M. C.; CUNHA, E. M. S.; DECONTO, I.; BONACIM, J.; UTIME, R. A.; BIONDO, A. W. (2006). Detection of antibodies against equine viral arteritis virus (EVAV) and equine herpesvirus type 1 (EHV-1) in cart horses from Curitiba and surroundings, southern Brazil. *Archives of Veterinary Science*, 11 (3): 11-14.

LARA, M. C. C. S. H.; TORELLI, C. S.; CUNHA, E. M. S.; VILLALOBOS, E. M. C.; CUNHA, M. S.; BELLO, A. C. P. P.; CUNHA, A. P.; REIS, J. K. R. P.; LEITE, R. C.; MORI, E. (2010). Inquérito sorológico da infecção por herpesvírus equino no estado de Minas Gerais. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 47 (5): 352-356.

LUNN, D. P.; DAVIS-POINTER, N.; FLAMINIO, M. J. B. F.; HOROHOV, D.W.; OSTERRIEDER, K.; PUSTERLA, N.; TOWNSEND, H. G. G. (2009). Equine herpesvirus-1 consensus statement. *J. Vet. Intern. Med.*, 23: 450-461.

MA, G.; ESCHBAUMER, M.; SAID, A.; HOFFMANN, B.; BEER, M.; OSTERRIEDER, N. (2012). An equine herpesvirus type 1 (EHV-1) expressing VP2 and VP5 of serotype 8 bluetongue virus (BTV-8) induces protection in a murine infection model. *PLoS One.*, 7(4): e34425.

MA, G.; AZAB, W.; OSTERRIEDER, N. (2013). Equine herpesviruses type 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) – Masters of co-evolution and a constant threat to equids and beyond. *Veterinary Microbiology*, 167: 123-134.

MANNINGER, R.; CSONTOS, J. (1941). Virusabortus der Stuten. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 49: 105-108.

MARENZONI, M. L.; BIETTA, A.; LEPRI, E.; PROIETTI, P. C.; CORDIOLI, P.; CANELLI, E.; STEFANETTI, V.; COLETTI, M.; TIMONEY, P. J.; PASSAMONTI, F. (2013). Role of equine herpesviruses as co-infecting agents in cases of abortion, placental disease and neonatal foal mortality. *Vet. Res. Commun.*, 37: 311-317.

MEKONNEN, A.; ESHETU, A.; GIZAW, D. (2017). Equine herpesvírus 1 and/or 4 in working equids: seroprevalence and risk factors in North Shewa Zone, Ethiopia. *Ethiop. Vet J.*, 21 (2): 28-39.

MENDES, B. S. S. M. (2011). Caracterização e análise de alguns parâmetros produtivos e reprodutivos de um sistema extensivo de produção de poldros. 69p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica – Produção Animal), Universidade Técnica de Lisboa.

MODOLO, J. R.; PETZOLDT, K.; GOTTS-CHALK, A. F.; MARGATHO, L. F. F.; FORLIN, W.; CARREIRA, E. L. C. (1989). Investigação sorológica do *Herpesvirus equi-1* em equinos pelo teste de fixação de complemento, considerações sobre seu uso na saúde do haras. *A Hora Veterinária*, 8 (48): 25-27.

MOREIRA, N.; KRUGER, E. R.; WARTH, J. F. G.; BIESDORF, S. M.; GOULARTE, M. M. M.; WEISS, R. R. (1998). Aspectos etiológicos e epidemiológicos do aborto equino. *Arch. Vet. Scienc.* 3 (1): 25-30.

MOREIRA, N.; WEISS, R. R.; KRUGER, E. R. (2000). Frequência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus equino tipo 1. *Scientia Agraria*, 1 (1-2): 9-14.

MORI, E. Infecção experimental em cavalos pelo herpesvírus equino tipo 1: aspectos clínicos e detecção do agente pela reação em cadeia de polimerase. 2005. 157p. Tese (doutorado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

MORI, C. M. C. Avaliação da etiopatogenia da encefalite causada pelo herpesvírus equino tipo 1 utilizando um modelo murino de neuroinfecção. 2012. 126p. Tese (doutorado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

MURPHY, F. A.; GIBBS, E. P. J.; HORZINEK, M. C.; STUDDERT, M. J. (1999). *Veterinary Virology*. 3ª ed. EUA. Ed. Elsevier, 629p.

NILSON, M. R.; CORREA, W. M. (1966). Isolamento do vírus do aborto equino no Estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, 33 (2): 23-25.

NUGENT, J.; BIRCH-MACHIN, I.; SMITH, K. C.; MUMFORD, J. A.; SWANN, Z.; NEWTON, J. R.; BOWDEN, R. J.; ALLEN, G. P.; DAVIS-POYNTER, N. (2006). Analysis of Equid Herpesvirus 1 strain variation reveals a point mutation of the DNA polymerase strongly associated with neuropathogenic versus nonneuropathogenic disease outbreaks. *Journal of Virology*, 80 (8): 4047-4060.

OIE. WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. (2008). Equine rhinopneumonitis – Terrestrial Manual, Chapter 2.5.9. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.05.09_EQUINE_RHINO.pdf>. Acesso em: 22. Dez. 2017.

OSTLUND, E. N. (1993). The equine herpesvirus. In: SELTON, D.C. *The Veterinary Clinics of North America, Equine Practice*, W. B. Saunders Company, 1^a ed.

OSTLUND, E. N. (1994). The equine herpesviruses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 9: 283-294.

PAILOT, R.; CASE, R.; ROSS, J.; NEWTON, R.; NUGENT, J. (2008). Equine herpesvírus-1: virus, immunity and vaccines. *The Open Vet. Scien. J.*, 2: 68-91.

PATEL, J. R.; FOLDI, J.; BATEMAN, H.; WILLIAMS, J.; DIDLICK, S.; STARK, R. (2005). Equid herpesvírus (EHV-1) live vaccine strain C147: efficacy against respiratory diseases following EHV types 1 and 4 challenges. *Vet. Microb.*, 92:1-17.

PATEL, J. R.; HELDENS, J. (2005). Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) – epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review. *Veterinary Journal*, 170 (1): 14-23.

PENA, L. J.; PENA, D. A.; BARRIOS, P. R.; DALE, R.; LAMÊGO, M. R. A.; MORAES, M. P. (2006). Levantamento soro-epidemiológico da infecção pelo vírus da Anemia Infecciosa Equina, da

Influenza Equina-2 e do Herpesvírus Equino-1 em rebanhos do sul do Estado do Pará, Brasil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 43 (4): 537-542.

PERKINS, G.; AINSWORTH, D. M.; ERB, H. N.; PIERO, F.; MILLER, M.; WILKINS, P. A.; PALMER, J.; FRAZER, M. (1999). Clinical, haematological and biochemical findings in foals with neonatal Equine herpesvírus-1 infection compared with septic and premature foals. *Equine Vet. J.*, 31 (5): 422-426.

PLUMMER, G.; WATERSON, A. P. (1963). Equine herpesviruses. *Virology*, 19: 412-416.

PRADO, C. O. (2011). Padronização de uma Reação em cadeia pela polimerase (PCR) para detecção do herpesvírus equino tipo 1 em tecidos incluídos em parafina. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

PUSTERLA, N.; WILSON, D.; MADIGAN, J. E.; FERRARL, G. L. (2009). Equine herpesvírus-1 myeloencephalopathy: a review of recente developments. *Veterinary Journal*, 180 (3): 279-289.

REED, S. M.; TORIBIO, R. E. (2004). Equine herpesvírus 1 and 4. *Vet. Clin. Equine*, 20: 631-642.

SÁENZ, J. R.; GÓEZ, Y.; HERRERA, A. L. (2008). Detección de DNA de herpesvirus equino tipos 1 y 4 en mononucleares de sangre periférica y ganglio trigémico de equinos. Infección, latencia y una aproximación a la neuropatogénesis de la cepa circulante. *Revista Colombiana de Ciências Pecuárias*, 21: 372-386.

SANGIONI, L. A.; BOTTOM, S. A.; CARGNELUTTI, J. F.; CADORE, G. C.; CEZAR, A. S.; WEIBLEN, R.; LOPES, S. T. A.; VOGEL, F. S. F. (2011). Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora* spp. e anti-herpesvírus equino em cavalos de tração no município de Santa Maria, RS, Brasil. *Ciência Rural*, 41 (2).

SAXEGAARD, F. (1966). Isolation and identification of equine rhinopneumonitis virus (equine abortion virus) from causes of abortion and paralysis. *Nordisk Veterinaer Medicin*, 18: 504-512.

SILVA, A. A. Gestão sanitária do abortamento e mortalidade perinatal em equinos: *Leptospira* e Herpesvírus equino -1 como agentes causais. 2014. 133p. Dissertação (mestrado) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios.

SILVA, J. S.; MACHADO, J.; ANDRADE, J. S. C. O.; WANDERLEY, R. A. (2015). Diagnóstico climático e potencial agrícola da microrregião Vale do Ipojuca através da modelagem digital do terreno. Geama, 1(1).

SLATER, J.; LUNN, D. P.; HOROHOV, D. W.; ANTCZAK, D. F.; BABIUK, L.; BREATHNACH, C.; CHANG, Y. W.; DAVIS-POYNTER, N.; EDINGTON, N.; ELLIS, S.; FOOTE, C.; GOEHRING, L.; KOHN, C. W.; KYDD, J.; MATSUMURA, T.; MINKE, J.; MORLEY, P.; MUMFORD, J.; NEUBAUER, T.; O'CALLAGHAN, D. O.; OSTERRIEDER, K.; REED, S.; SMITH, K.; TOWNSEND, H.; VAN DER MEULEN, K.; WHALLEY, M.; WILSON, W. D. (2006). Report of the equine herpesvirus-1 Havermeier workshop, San Gimignano, Tuscany. Vet. Immun. Immunopath., (111): 3-13.

SLATER, J. (2007). Controlling equine herpesvírus-1 infections. In Proc. Voorjaardagen Eur. Vet. Conf., p.237-239.

SMITH, K. C.; MUMFORD, J. A.; LAKHANI, K. (1996). A comparison of equid herpesvírus (EHV-1) vascular lesions in the early versus late pregnant equine uterus. J. Comp. Pathol., 114: 231-247.

SMITH, B. P. (2006). Medicina Interna de Grandes Animais. Ed. Manole, 3ª ed.

SMITH, K. L.; LI, Y.; BREHENY, P.; COOK, R. F.; HENNEY, P. J.; SELLS, S.; PRONOST, S.; LU, Z.; CROSSLEY, B. M.; TIMONEY, P. J.; BALASURIYA, U. B. R. (2012). A New Allelic Discrimination Real-Time PCR Assay for Detection and Differentiation of A2254 and G2254 Strains of Equine Herpesvirus-1. J. Clin. Microbiol., 50(6): 1981-88.

SPRAYBERRY, K. A.; ROBINSON, N. E. (2014). Robinson's current therapy in equine medicine. Ed. Elsevier Health Sciences, 7ª ed.

STANNARD, L. M. (1995). Herpesvirus. Disponível em: <<http://www.virology.uct.ac.za/vir/teaching/linda-stannard/herpesvirus>>. Acesso em: 20. Dez. 2017.

STUDDERT, M. J.; SIMPSON, T.; ROIZMAN, B. (1981). Differentiation of respiratory and abortigenic isolates of equine herpesvírus 1 by restriction endonucleases. *Science*, 214 (4520): 562-564.

STUDDERT, M. J.; HARTLEY, C. A.; DYNON, K.; SANDY, J. R.; SLOCOMBE, R. F.; CHARLES, J. A.; MILNE, M. E.; CLARKE, A. F.; EL-HAGE, C. (2003). *Vet. Rec.*, 153 (14): 417-423.

TRAÇA, A. B. B. A. Evolução do controlo reprodutivo equino em Portugal e as suas repercussões na produtividade. 2010. 126p. Dissertação (mestrado) – Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.

VAN DER MEULEN, K. M.; FAVOREEL, H. W.; PENSAERT, M. B.; NAUWYNCK, H. J. (2006). Immune escape of equine herpesvírus 1 and other herpesviruses of veterinary importance. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 111 (1-2): 31-40.

VARGAS, A. C.; WEIBLEN, R. (1991). Prevalência de anticorpos contra herpesvírus equino tipo 1 (HVE 1) em equinos de alguns municípios do Estado do Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária*, 10 (59): 5-8.

VASCONCELLOS, L. A. S. (1997). Correlação entre abortamento equino e os níveis de anticorpos fixadores de complemento contra herpesvírus equino tipo-1 em éguas criadas no estado de São Paulo. *Ars Veterinaria*, 13 (1): 52-58.

WAGNER, B.; GOODMAN, L. B.; BABASYAN, S.; FREER, H.; TORSTEINSDÓTTIR, S.; SVANSSON, V.; BJÖRNSDÓTTIR, S.; PERKINS, G. A. (2015). Antibody and cellular immune responses of naive mares to repeated vaccination with an inactivated equine herpesvírus vaccine. *Vaccine*, 33 (42):5588-5597.

WEIBLEN, R. (1998). Infecções por herpesvírus equinos. In: RIET-CORRÊA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. *Doenças de Ruminantes e Equinos*. Editora Universitária.

APÊNDICES

APÊNDICE 3

Questionário epidemiológico para HVE e de parâmetros reprodutivos

PERFIL DO PRODUTOR:

- 1) Nome:
2) Criação: () equinos () asininos () muares 3) Sabe o que é herpesvírus: () Não () Sim.

CARACTERÍSTICAS DA PROPRIEDADE E PRODUÇÃO:

- 4) Endereço: 5) Localidade:
6) A propriedade fica no meio: () rural () urbano 7) Área total (ha):
8) Tipo de propriedade: () sítio () chácara () fazenda () haras () outros: _____
9) Criação (em nº): () equinos () asininos () muares
10) Finalidade(s) da criação de equinos: () Reprodução () Vaquejada () Tambor ()
Marcha () Corrida () Outros: _____
11) Raça (s) de equinos: () MM () QM () BH () Campolina () Árabe () Outras:
12) Possui assistência méd. veterinária: () Não () Sim

NUTRIÇÃO:

- 13) Volumoso fornecido: () Feno () Silagem () Grama () Capim, espécie:
14) Fornece sal mineral? () Não () Sim
15) Se *sim*, este é específico para equinos? () Não () Sim
16) Fonte da água utilizada na propriedade para consumo animal:
17) Sistema de criação: () Intensivo () Semintensivo () Extensivo

SANIDADE/REPRODUÇÃO:

- 18) Vacina os equinos contra herpesvírus? () Não () Sim
18.1) Se *sim*, vacinas utilizadas: _____
19) Realiza quarentena na propriedade: () Não () Sim
19.1) Se *sim*, faz exames de herpesvírus equino nos animais antes de inseri-los no plantel? () Não () Sim
20) Faz uso, na propriedade, de quais técnicas reprodutivas? () MN () MN controlada () IA
() TE () Outras: _____
21) Casos de abortos na propriedade: () Não () Sim
21.1) Quantidade de casos de aborto:
22) Destino de restos placentários/feto abortado: () lixo comum () não se dá destino efetivo ()
incinera e enterra () Outros:

23) Limpeza das baias, cochos e comedouros: () diária () a cada 2 dias () 3x/semana () 1x/semana () Não se aplica.

24) Casos de mortalidade perinatal: () Não () Sim

24.1) Quantidade de casos de mortalidade perinatal: _____/estação

25) Taxa de fecundidade: () 1 potro/ano () 1 potro a cada 2 anos () mais de 2 anos de intervalo

26) Sazonalidade reprodutiva: () éguas com ciclos regulares* () éguas com ciclos irregulares

() éguas em anestro prolongado () éguas jovens que não ciclam

27) Tempo de gestação (média) das éguas: () < 320 dias () 320-335 dias () > 335 dias

28) Intervalo entre partos: () anual () entre 1 e 2 anos () superior a 2 anos

29) Ocorrência de partos auxiliados na propriedade: () Não () Sim

30) Idade ao primeiro filho (garanhões): () 4 anos () 4-8 anos () 8-12 anos () Outros:

31) Idade ao último filho (garanhões): () 4 anos () 4-8 anos () 8-12 anos () >12 anos () Outros:

32) Nº de filhos (garanhões): () até 20 () 20-40 () 40-60 () acima de 60

33) Já teve alguma infecção nos órgãos genitais? () Não () Sim.

33.1) Teve recidiva? () Não () Sim.

_____ FIM _____

* conforme estação de monta da raça.