

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

Letícia Maffi Augusti

**ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS CANINO TIPO 1 EM CÃES
DOMICILIADOS E DE ABRIGOS NO RIO GRANDE DO SUL**

Santa Maria, RS

2016

Letícia Maffi Augusti

**ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS CANINO TIPO 1 EM CÃES
DOMICILIADOS E DE ABRIGOS NO RIO GRANDE DO SUL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientador: Prof. Rudi Weiblen

Santa Maria, RS
2016

Letícia Maffi Augusti

**ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS CANINO TIPO 1 EM CÃES
DOMICILIADOS E DE ABRIGOS NO RIO GRANDE DO SUL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Medicina Veterinária.**

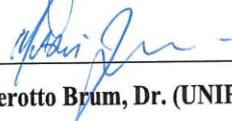


Rudi Weiblen, PhD. (UFSM)

(Presidente/Orientador)



Eduardo Furtado Flores, PhD. (UFSM)



Mário Celso Sperotto Brum, Dr. (UNIPAMPA)

Santa Maria, RS
2016

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus por sempre guiar meus caminhos e pelas proteções que me foram concedidas.

À toda minha família, pelo apoio, ajuda e confiança em mim depositada, em especial, meus pais, Ademir Trevisan Augusti e Regina Elizabeth Maffi Augusti, os quais são exemplos de força, dedicação e honestidade. Obrigada pelo amor incondicional em todos os momentos e por nunca medirem esforços para dar educação aos filhos.

À minha avó Ivone Bordin Maffi, pelo amor incondicional e orações.

Ao meu irmão Otávio Maffi Augusti, pelo carinho e pelos momentos de descontração.

Aos meus orientadores Rudi Weiblen e Eduardo Furtado Flores, por terem aberto as portas do Setor de Virologia – UFSM e pela oportunidade que me concederam de realizar o estágio curricular e o mestrado. Agradeço por todos os ensinamentos, que foram indispensáveis para o meu crescimento pessoal e profissional. Obrigada por serem exemplos de dedicação ao trabalho.

A todos os meus amigos e colegas do Setor de Virologia – UFSM, tanto aos que já passaram pela Virologia quanto os mais novos, por toda colaboração na execução dos experimentos bem como nos vários momentos de aprendizados e diversão. Em especial, à minha coorientadora Juliana Felipetto Cargnelutti, que não mediu esforços para a conclusão deste trabalho.

A todos os professores que tive desde o ensino fundamental até a pós-graduação, em especial, aos professores do curso de Biomedicina do Centro Universitário Franciscano (UNIFRA) que repassaram seus conhecimentos com muita dedicação, competência e que despertaram em mim o interesse pela vida acadêmica.

A todos os meus amigos, com os quais compartilhei momentos de alegrias e tristezas e que comemoraram comigo cada conquista.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária pela oportunidade de realizar o mestrado em um programa de excelência.

Ao CNPq pela concessão da bolsa e suporte financeiro.

Ao Hospital Veterinário Universitário de Santa Maria (HVU/UFSM), coordenadores dos abrigos e do laboratório clínico da Universidade do Rio Grande do Sul pelo fornecimento das amostras.

E a todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação pessoal e profissional, muito obrigada!

RESUMO

ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS CANINO TIPO 1 EM CÃES DOMICILIADOS E DE ABRIGOS NO RIO GRANDE DO SUL

AUTORA: Letícia Maffi Augusti

ORIENTADOR: Rudi Weiblen

O herpesvírus canino tipo 1 (CHV-1) está associado a desordens reprodutivas e mortalidade neonatal em cães. O CHV-1 tem distribuição mundial e é considerado enzoótico na população canina, no entanto, a frequência da infecção no país ainda é desconhecida, e assim, se desconhece a real necessidade de medidas adicionais de prevenção, como a vacinação. Com isso, o objetivo deste trabalho foi investigar a presença de anticorpos contra o CHV-1 em amostras de soro de cães domiciliados e de abrigos em diferentes cidades do Rio Grande do Sul. Para isso, foram testadas 914 amostras de soro de cães domiciliados de Santa Maria (332 amostras obtidas do Hospital Veterinário Universitário - HVU/UFSM e 381 obtidas durante a campanha de vacinação antirrábica de 2015), de um laboratório clínico veterinário de Porto Alegre (n=43) e 158 de cães de abrigos dos municípios de Passo Fundo (n=98) e Cachoeira do Sul (n=60). Estas amostras de soro foram testadas pela técnica de soroneutralização (SN) para anticorpos contra o CHV-1. Anticorpos neutralizantes contra o CHV-1, em títulos iguais ou superiores a 4, foram detectados em 66,9% (612/914) das amostras. Entre os cães domiciliados de Santa Maria, 79,5% (264/332) provenientes do HVU/UFSM e 57,2% (218/381) das obtidas durante a campanha de vacinação antirrábica de Santa Maria foram positivas. Das amostras coletadas no laboratório clínico em Porto Alegre, 41,8% (18/43) foram positivas para anticorpos para CHV-1. Entre os cães de abrigo, 72,4% (71/98) das amostras coletadas em Passo Fundo e 68,3% (41/60) das amostras do abrigo de Cachoeira do Sul foram sorologicamente positivas para CHV-1. Os títulos de anticorpos entre os grupos foram variáveis, mas a maioria dos animais positivos possuía títulos acima de 128. Como não existem vacinas comerciais contra o CHV-1 no Brasil, a presença de anticorpos neutralizantes indica a circulação do CHV-1 na população canina das cidades estudadas. Com base nesses achados, medidas de controle, prevenção, imunização e a necessidade de um correto diagnóstico devem ser consideradas contra o CHV-1 em cães no sul do Brasil.

Palavras-chave: CHV-1. Soroneutralização. Cães domiciliados. Abrigos.

ABSTRACT

ANTIBODIES AGAINST CANINE HERPESVIRUS TYPE 1 IN HOUSEHOLD AND SHELTER DOGS IN RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

AUTHOR: Letícia Maffi Augusti

ADVISER: Rudi Weiblen

Canine herpesvirus type 1 (CHV-1) is associated with reproductive disorders and neonatal mortality. CHV-1 is widely distributed and is considered enzootic in the dog population. Occurrence of infection in the country is unknown, and thus the real need for additional prevention measures, such as vaccination, is unknown. Therefore, the aim of this study was to investigate the presence of antibodies against CHV-1 in serum samples of domestic and sheltered dogs of different regions from Rio Grande do Sul state. For this, 914 serum samples from domestic dogs from Santa Maria (332 dogs obtained from Hospital Veterinário Universitário - HVU / UFSM and 381 from in the anti-rabies vaccination campaign), a veterinary clinical laboratory in Porto Alegre (n=43) and 158 from shelters dogs of Passo Fundo (n=98) and Cachoeira do Sul (n=60). Serum samples were tested by virus-neutralization test (VN) for CHV-1 antibodies. Neutralizing antibodies against CHV-1 in titers equal or higher than 4 were detected in 66,9% (612/914) of the samples. Among household dogs, 79,5% (264/332) from HVU/UFSM and 57.2% (218/381) from the vaccination campaign. Among the samples collected in the clinical laboratory in Porto Alegre, 41.8% (18/43) had antibodies to CHV-1. Among the sheltered dogs, 72.4% (71/98) of samples from Passo Fundo and 68.3% (41/60) from Cachoeira do Sul had antibody to CHV-1. The antibody titers ranged among the groups, but many samples had titers higher than 128. Since there are no commercial vaccines against CHV-1 in Brazil, the presence of neutralizing antibodies indicates the circulation of CHV-1 in the investigated population. Based on these findings, control measures, prevention, immunization and the need for a correct diagnosis should be considered.

Key words: CHV-1. Virus neutralization. Domiciled dogs. Shelters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição dos títulos de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus canino tipo 1 em cães domiciliados de Santa Maria e Porto Alegre e em cães de abrigos de Passo Fundo e Cachoeira do Sul.....	30
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus canino tipo 1 em soro de cães de acordo com as diferentes localidades/origens.....	29
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. CAPÍTULO 1 - ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS CANINO TIPO 1 EM CÃES DOMICILIADOS E DE ABRIGOS DO RIO GRANDE DO SUL	14
ABSTRACT.....	15
RESUMO.....	16
INTRODUÇÃO.....	17
MATERIAL E MÉTODOS.....	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS.....	25
3. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

O herpesvírus canino tipo 1 (CHV-1) pertence à família *Herpesviridae*, ao gênero *Varicellovirus* e à subfamília *Alphaherpesvirinae* (ICTV, 2014), e foi originalmente isolado em 1964 de cães neonatos que desenvolveram doença sistêmica fatal (CARMICHAEL; SQUIRE; KROOK, 1965). Os herpesvírus são envelopados, com dimensões de 120 a 300 nm, possuem genoma DNA fita dupla linear, de aproximadamente 150kb. Assim como os demais membros da família *Herpesviridae*, o CHV-1 é pouco resistente no ambiente e facilmente inativado por solventes lipídicos, substâncias com pH muito ácido ou muito básico, e temperaturas elevadas (CARMICHAEL; GREENE, 2006; DAVISON et al., 2009; ROIZMAN et al., 1992). Uma importante característica do CHV-1, assim como os demais alfa herpesvírus, é o potencial de estabelecer latência nas células de seus hospedeiros, principalmente nos gânglios nervosos. O vírus latente pode ser reativado em casos de queda da imunidade ou quando os indivíduos infectados são submetidos a situações estressantes, doenças concomitantes ou pela administração de corticosteróides. Assim, o portador se torna capaz de disseminar a doença durante esses períodos de reativação, excreção e/ou viremia, permitindo a perpetuação e manutenção do vírus na natureza (ROIZMAN; BAINES, 1991; ROIZMAN et al., 1992; RONSEE et al., 2004; SHERDING, 2008). A reativação e a excreção viral podem ocorrer mesmo na ausência de sinais clínicos. Isto é de extrema importância em locais de grande aglomeração de animais, como em abrigos ou canis, pois os portadores latentes corroboram para a disseminação do vírus para os demais animais da população (GREENE, 2012).

O CHV-1 está mundialmente distribuído em populações de cães e a porcentagem de animais soropositivos varia entre as diferentes regiões. Em alguns países da Europa, principalmente em abrigos, a soroprevalência do CHV-1 é elevada (KROGENAES et al., 2014; LEDBETTER, 2013; RIJSEWIJK et al., 1999; RONSEE et al., 2002). Um estudo realizado na Noruega apontou uma soroprevalência do CHV-1 de 85,5% para CHV-1 em animais de canis (KROGENAES et al., 2014). Por outro lado, frequência de animais soropositivos para o CHV-1, em cães assintomáticos, variou de 14 a 18% na Itália, onde não houve diferença de títulos de anticorpos entre as populações de cães domiciliados e de canis (PRATELLI; COLAO; LOSURDO, 2014). Dahlbom et al. (2009) realizaram um estudo comparativo entre animais acometidos pelo CHV-1 em canis com e sem problemas reprodutivos e evidenciaram títulos significativamente mais elevados na população de animais dos canis com problemas reprodutivos (100% dos animais) do que nos canis que não

possuíam problemas reprodutivos (65% dos animais). Uma investigação sorológica realizada na Turquia utilizou o teste de soroneutralização bem como ELISA para investigar a soroprevalência do CHV-1 na população de cães e encontrou uma frequência de 39,3% de amostras positivas testados pelo ELISA enquanto que, 29,4% das amostras testadas pela técnica de soroneutralização foram positivas para o CHV-1 (YESILBAG et al., 2010). A frequência do CHV-1 também foi investigada em canis de criação privados de Ankara, na Turquia, onde 71,8% dos animais foram positivos para anticorpos específicos contra CHV-1 (ACAR et al., 2009). Os testes realizados por ELISA parecem ser mais sensíveis (RONSEE, et al., 2002; YESILBAG et al., 2010) do que os realizados pela técnica de soroneutralização, embora Reading e Field (1999) e Nothling et al. (2008) tenham evidenciado, em seus estudos, uma sensibilidade semelhante entre as duas técnicas.

A circulação do CHV-1 também ocorre na população canina do Brasil, no entanto, os estudos envolvendo o CHV-1 se restringem a relatos clínicos de mortalidade neonatal (AVILA et al., 2011; CARGNELUTTI et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2009). Casos de mortalidade neonatal foram descritos em canis de reprodução em Porto Alegre - RS, onde o CHV-1 foi detectado em órgãos de filhotes submetidos à necropsia (CARGNELUTTI et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2009), e anticorpos contra o CHV-1 foram identificados nas fêmeas (CARGNELUTTI et al., 2015). Nesses casos, o diagnóstico foi realizado com base nos achados clínico-patológicos e na detecção do vírus por testes laboratoriais. No município de Canoas – RS, também, foi relatada a ocorrência de mortalidade neonatal em decorrência de infecção por CHV-1 (ÁVILA et al., 2011). Uma investigação conduzida em Minas Gerais, o DNA do CHV-1 foi detectado em amostras de urina e secreção ocular em cadelas com histórico/sinais de desordens reprodutivas, apontando uma prevalência de 10% na população canina estudada (SANTOS, 2014).

A transmissão ocorre pelo contato direto de cães com excreções e secreções (ocular, nasal e genital) de animais infectados ou por fômites e, a transmissão aos filhotes pode ocorrer durante a sua passagem pelo canal do parto, pela via transplacentária ou pelas secreções oronasais da fêmea (GALOSI, 2007; GREENE, 2012).

A infecção de cães pelo CHV-1 pode ser assintomática ou estar associada a manifestações clínicas variadas, acometendo animais de todas as raças, sexos e idades. No entanto, os distúrbios mais severos ocorrem em filhotes com menos de três semanas de idade, bem como em fêmeas prenhes (CARMICHAEL; GREENE, 2006).

Nos cães adultos, a infecção pode provocar desordens reprodutivas como balanopostite em machos e reabsorção embrionária, infertilidade, abortos, mortalidade

neonatal e vulvovaginite em fêmeas (EVERMANN; LEDBETTER; MAES, 2011; FOSTER, 2007; GREENE, 2012). Os animais infectados podem desenvolver, também, quadros respiratórios (DECARO; MARTELLA; BUONAVOGLIA, 2008; EVERMANN; LEDBETTER; MAES, 2011; OLIVEIRA et al., 2009).

Em filhotes recém-nascidos que se infectam via transplacentária ou durante o parto, a mortalidade pode chegar a 100%, pois a infecção provoca lesões sistêmicas, caracterizadas por necrose hemorrágica multifocal progressiva em vários órgãos (DECARO; MARTELLA; BUONAVOGLIA, 2008; EVERMANN; LEDBETTER; MAES, 2011; RONSEE et al., 2005). Em neonatos, o grave quadro clínico é atribuído a menor temperatura corporal, a deficiência do sistema imunológico e a falta de anticorpos maternos transmitidos através do colostro (CARMICHAEL; BARNES; PERCY, 1969; CARMICHAEL; GREENE, 2006; GALOSI, 2007). A influência dos anticorpos maternos transmitidos pelo colostro também é um fator importante na resistência da infecção nos primeiros 15 dias de vida, pois os anticorpos séricos de fêmeas prenhes infectadas podem reduzir a viremia e a disseminação da infecção para o feto (CARMICHAEL; GREENE, 2006; GALOSI, 2007).

A menor temperatura corporal dos cães neonatos (36° - 37°C) é similar à temperatura ótima de replicação do vírus (35°C - 37°C) em cultivo celular, e esse fato pode ser atribuído como fator predisponente de uma infecção fatal pelo CHV-1 (CARMICHAEL; BARNES; PERCY, 1969). Além disso, a temperatura externa do ambiente onde os animais vivem pode influenciar no desenvolvimento da infecção, pois as condições climáticas e o local de alojamento favoreceram uma menor temperatura corporal para os neonatos (OLIVEIRA et al., 2009).

O diagnóstico da infecção por CHV-1 é estabelecido através da anamnese, associado aos achados clínicos, devido a presença de pápulas e vesículas nas mucosas genitais e respiratórias, achados de necropsia e por técnicas laboratoriais (CARMICHAEL; GREENE, 2006). O isolamento viral em cultivo celular é o teste considerado “padrão-ouro” para o diagnóstico. Outras técnicas também utilizadas incluem a identificação de anticorpos por testes sorológicos como soroneutralização (SN), e a detecção do agente por imunofluorescência (IFA), imunohistoquímica (IHQ), ELISA e reação em cadeia da polimerase (PCR) (GALOSI, 2007; SHERDING, 2008).

O diagnóstico é mais facilmente estabelecido em casos de morte neonatal, pois as lesões na necropsia são características e incluem áreas de necrose e hemorragia multifocal em vários órgãos, incluindo rim, pulmões, fígado, intestino e cérebro (CARMICHAEL; GREENE, 2006). Corpúsculos de inclusão intranuclear também podem ser visualizados no

tecido necrótico, porém podem se apresentar de difícil localização e, frequentemente, podem estar ausentes mesmo na ocorrência de severas lesões histológicas (CORNWELL; WRIGHT, 1969).

No entanto, o diagnóstico definitivo ocorre pela demonstração do agente através do isolamento em cultivo celular ou testes moleculares (DECARO; MARTELLA; BUONAVOGLIA, 2008; LEDBETTER, 2013). A sorologia para CHV-1 também auxilia no diagnóstico, principalmente no Brasil, onde não são comercializadas vacinas, o que indica que a presença de anticorpos em animais é resultado da exposição prévia ao agente (SHERDING, 2008).

Até o momento não há tratamento efetivo para o CHV-1, e os animais afetados recebem apenas terapia de suporte, objetivando diminuir o problema com infecções bacterianas secundárias. No entanto, muitas vezes o tratamento dos animais com sinais sistêmicos é ineficaz devido ao rápido e progressivo desenvolvimento da doença (CARMICHAEL; GREENE, 2006). Além disso, são poucos os estudos com o uso de drogas antivirais contra herpesvírus de animais e, ainda não está estabelecida a dose efetiva e que não causa efeitos colaterais em cães (DEZENGRINI et al., 2010; MAGGS; CLARKE, 2004; PALMA et al., 2010).

Um adequado manejo e boas condições sanitárias das instalações dos animais, no caso de cães e abrigos, diminuem a severidade da infecção (GALOSI, 2007). Porém, uma das medidas mais eficazes para a prevenção do CHV-1 seria o uso de vacinas, mas estas não estão disponíveis comercialmente no Brasil. Na Europa a vacina contra CHV-1 está disponível e é utilizada em cães, onde fêmeas com transtornos reprodutivos são imunizadas antes do acasalamento a fim de proteger o feto e prevenir a infecção dos recém-nascidos. No entanto, a falta de conhecimento sobre a prevalência do CHV-1 nas populações de cães do Brasil e a dificuldade em obter o diagnóstico definitivo em casos que cursam com sinais clínicos semelhantes aos produzidos pelo CHV-1, reduzem os incentivos para a produção de vacinas comerciais para a doença (CARMICHAEL; GREENE, 2006).

Assim, embora estudos clínico-patológicos, virológicos têm demonstrado a circulação do CHV-1 em determinadas regiões do Rio Grande do Sul, são escassas as informações sobre a sua real prevalência nas populações de cães do Brasil (MONTEIRO et al., 2016; CARGNELUTTI et al., 2015; SANTOS, 2014; OLIVEIRA et al., 2009). Além disso, a alta taxa de mortalidade e morbidade entre os filhotes pelo CHV-1 e a influência do vírus na ocorrência de desordens reprodutivas em fêmeas são fatores que ressaltam a importância de mais estudos envolvendo a infecção por este vírus (DAHLBOM et al., 2009; LOVE;

HUXTABLE, 1976; OLIVEIRA et al., 2009; RONSEE et al., 2005). Portanto, a detecção de anticorpos anti-CHV-1 em cães domiciliados e de abrigos do Rio Grande do Sul poderia demonstrar a situação epidemiológica do CHV-1 e auxiliar no planejamento de estratégias de controle, prevenção e erradicação da infecção.

2. CAPÍTULO 1

Anticorpos contra o herpesvírus canino tipo 1 em cães domiciliados e de abrigos no Rio Grande do Sul

Letícia Maffi Augusti, Juliana Felipetto Cargnelutti, Francielle Liz Monteiro, Eduardo Furtado Flores, Rudi Weiblen

(Artigo a ser submetido à revista *Ciência Rural* – 2016)

Antibodies against canine herpesvirus type 1 in household and shelter dogs in Rio Grande do Sul, Brazil

Anticorpos contra o herpesvírus canino tipo 1 em cães domiciliados e de abrigos no Rio Grande do Sul

Letícia Maffi Augusti¹ Juliana Felipetto Cargnelutti¹ Francielle Liz Monteiro¹ Eduardo Furtado Flores² Rudi Weiblen²

ABSTRACT

Canine herpesvirus type 1 (CHV-1) infection is an important cause of morbidity in adult bitches and mortality in neonates. CHV-1 is widely distributed in the canine population in many countries, and clinical reports have shown its presence in Brazil. However, the frequency of infection in Brazil is unknown. The aim of this study was to investigate the presence of antibodies against CHV-1 in serum samples of domestic and sheltered dogs of different regions from Rio Grande do Sul state. For this, 914 serum samples were tested by virus-neutralization test (VN) for CHV-1 antibodies. The samples included 713 from domestic dogs from Santa Maria (332 dogs attended in clinical routine of Hospital Veterinário Universitário – HVU/UFSM- and 381 obtained from dogs in the anti-rabies vaccination campaign), 43 animals household dogs in Porto Alegre, and 158 from shelters of Passo Fundo (n=98) and Cachoeira do Sul (n=60). Neutralizing antibodies against CHV-1 equal or higher than 4 were detected in 66.9% (612/914) of the samples. Among household dogs, 79.5%

¹ Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

² Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

(264/332) of the samples from HVU/UFSM, 57.2% (218/381) from the vaccination campaign, and 41.8% (18/43) collected in Porto Alegre had antibodies to CHV-1. Among the sheltered dogs, 72.4% (71/98) of serum samples from Passo Fundo and 68,3% (41/60) in Cachoeira do Sul had antibodies to CHV-1. The antibody titres ranged among the groups, but many samples had titers higher than 128. Since there are no commercial vaccines against CHV-1 in Brazil, the presence of neutralizing antibodies indicates the circulation of CHV-1 in the investigated populations. Based on these findings, control measures - including immunization - should be considered.

Key words: CHV-1, virus-neutralization, canine, RS.

RESUMO

As infecções por herpesvírus canino tipo 1 (CHV-1) são importantes causas de morbidade em fêmeas adultas e mortalidade em neonatos. O CHV-1 é amplamente distribuído na população canina de vários países, e relatos clínicos têm demonstrado a sua presença no Brasil. No entanto, a frequência da infecção no país ainda é desconhecida. Com isso, o objetivo deste trabalho foi verificar a presença de anticorpos contra o CHV-1 em amostras de soro de cães domiciliados e de abrigos em alguns municípios do Rio Grande do Sul. Para isso, 914 amostras de soro foram testadas pela técnica de soroneutralização (SN) para anticorpos contra o CHV-1. Destas, 713 eram oriundas de cães domiciliados de Santa Maria (332 de cães atendidos no Hospital Veterinário Universitário -HVU/UFSM- e 381 obtidas na campanha de vacinação antirrábica de 2015); 43 de animais domiciliados de Porto Alegre e 158 de abrigos dos municípios de Passo Fundo (n=98) e Cachoeira do Sul (n=60). Anticorpos neutralizantes contra o CHV-1, em títulos iguais ou superiores a 4, foram detectados em 66,9% (612/914) das amostras. Entre os cães domiciliados de Santa Maria, 79,5% (264/332) das amostras

provenientes do HVU/UFSM e 57,2% (218/381) das obtidas na campanha de vacinação antirrábica de Santa Maria foram positivas. Das amostras de Porto Alegre, 41,8% (18/43) possuíam anticorpos para CHV-1. Entre os cães de abrigo, 72,4% (71/98) das amostras de Passo Fundo e 68,3% (41/60) das amostras de Cachoeira do Sul foram positivas para anticorpos. Os títulos de anticorpos entre os grupos variaram, sendo que a maioria dos animais positivos apresentaram títulos acima de 128. Como não existem vacinas comerciais contra o CHV-1 no Brasil, a presença de anticorpos neutralizantes indica a circulação do CHV-1 nas populações estudadas. Com base nesses achados, medidas de controle – incluindo a vacinação – devem ser consideradas.

Palavras-chave: CHV-1, soroneutralização, canino, RS.

INTRODUÇÃO

O herpesvírus canino tipo 1 (CHV-1) pertence à família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Varicellovirus* (ICTV, 2014). Os herpesvírus são vírus envelopados, com dimensões de 120 a 300 nm, constituídos por um genoma DNA de fita dupla linear de, aproximadamente, 150kb (DAVISON et al., 2009). O CHV-1 pode ser encontrado em cães na forma assintomática ou associado com manifestações clínicas variadas, acometendo cães de todas as raças, sexos e idades, mas produzindo quadros mais severos em fêmeas prenhes e em filhotes com menos de quatro semanas de idade (CARMICHAEL & GREENE, 2006). A forma mais grave da infecção é a doença generalizada no neonato, que leva à morte animais de até 20 dias de idade. Outras manifestações importantes incluem reabsorção embrionária, abortos, infertilidade e vulvovaginite, e também doença respiratória, principalmente associada com outros agentes virais e bacterianos (OLIVEIRA et al., 2009; CARGNELUTTI et al., 2015). Assim como os

demais alfa herpesvírus, o CHV-1 estabelece infecções latentes nos hospedeiros, que podem ser reativadas em casos de queda da imunidade, situações estressantes, gestação, administração de corticosteróides ou doenças concomitantes (RONSSE et al., 2004; SHERDING, 2008).

O CHV-1 está mundialmente distribuído e a frequência de animais soropositivos varia entre as diferentes regiões. Em alguns países da Europa, principalmente em abrigos, a soroprevalência do CHV-1 é elevada (RIJSEWIJK et al., 1999; RONSSE et al., 2002; LEDBETTER, 2013; KROGENAES et al., 2014). Um estudo realizado na Finlândia apontou uma soroprevalência de 81,5% para CHV-1 em animais de cães (DAHLBOM et al., 2009). Por outro lado, a frequência de animais soropositivos para o CHV-1, em cães assintomáticos, variou de 14 a 18% na Itália, onde não houve diferença de títulos de anticorpos entre as populações de cães domésticos e de canis (PRATELLI et al., 2014).

No Brasil, a infecção por herpesvírus canino ainda é pouco descrita e os trabalhos relatando a presença do CHV se restringem a relatos clínicos de mortalidade neonatal (OLIVEIRA et al., 2009; AVILA et al., 2011; SANTOS, 2014; CARGNELUTTI et al., 2015; MONTEIRO et al., 2016;). Em canis de reprodução em Porto Alegre foram relatadas altas taxas de mortalidade neonatal, em que o CHV-1 foi detectado em órgãos dos animais submetidos à necropsia, e anticorpos contra o CHV-1 foram identificados nas cadelas (CARGNELUTTI et al., 2015). Em uma investigação semelhante, também em Porto Alegre, o CHV-1 foi detectado em órgãos de um filhote que morreu 24-72 horas após o início dos sinais respiratórios (OLIVEIRA et al., 2009). Em ambos os estudos, o diagnóstico foi realizado com base nos achados clínico-patológicos e na detecção do vírus, através de testes laboratoriais, como imunofluorescência e PCR. Já em um trabalho realizado em Minas Gerais, o DNA do CHV-1 foi detectado em amostras de urina e secreção ocular em cadelas que possuíam histórico/sinais de desordens reprodutivas (SANTOS, 2014).

Embora estudos clínico-patológicos e virológicos tenham demonstrado a presença do CHV-1 no Rio Grande do Sul, são escassas as informações sobre a sua real frequência no estado (OLIVEIRA et al., 2009; CARGNELUTTI et al., 2015; MONTEIRO et al., 2016). Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar a presença de anticorpos contra o CHV-1 em amostras de soro de cães domiciliados dos municípios de Santa Maria e Porto Alegre e de abrigos de Cachoeira do Sul e Passo Fundo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 914 amostras de soro de cães de diferentes raças e idades. Destas, 713 foram coletadas de cães domiciliados de Santa Maria-RS, sendo 381 coletadas de cães submetidos à vacinação antirrábica durante a campanha anual (2015) e 332 amostras obtidas no Hospital Veterinário Universitário (HVU/UFSM), de cães encaminhados para atendimentos clínicos e/ou cirúrgicos nos anos de 2013 e 2015. Amostras de cães domiciliados de Porto Alegre (n=43) foram obtidas em um laboratório clínico veterinário. Também foram testadas amostras coletadas de animais de abrigos de Passo Fundo (n=98) e Cachoeira do Sul (n=60).

Células e vírus

Para amplificação e quantificação do CHV-1, e realização dos testes de soroneutralização (SN) foram utilizadas células MDCK (Madin Darby canine kidney), cultivadas em meio essencial mínimo suplementadas com 10% de soro fetal bovino. A cepa Botucatu do CHV-1 utilizada nos ensaios foi cordialmente cedida pelo Dr. João Pessoa Araújo Júnior (UNESP – Botucatu/SP).

Teste de soroneutralização (SN)

Os testes de SN para detecção de anticorpos contra CHV-1 foram realizados em microplacas de 96 cavidades, conforme protocolo descrito por CARGNELUTTI et al. (2015), com modificações. Inicialmente, as amostras de soro foram submetidas à inativação do complemento em banho-maria a 65°C por 30 min (SHIRAISHI & HIRAYAMA, 2015). Em seguida, foi realizado uma SN qualitativa, onde as amostras de soro foram diluídas 1:4, incubadas com 100 a 450 doses infectantes para 50% dos cultivos celulares (DICC₅₀) da cepa CHV-1 Botucatu (2 h a 37°C), seguido da adição de suspensão de células MDCK e incubação em estufa a 37°C com 5% de CO₂. A leitura do teste foi realizada após 72 h, quando os cultivos foram observados para presença de efeito citopático (CPE). As amostras que não apresentaram CPE foram consideradas positivas para anticorpos. Amostras sabidamente positivas e negativas para anticorpos foram utilizadas como controles. A seguir, as amostras positivas foram submetidas ao teste de SN quantitativo, na qual diluições seriadas das amostras de soro (1:4 a 1:256) foram incubadas com 100 a 450 DICC₅₀ do CHV-1, seguido da adição da suspensão celular e incubação por 72 h. A recíproca da maior diluição do soro que inibiu a produção de CPE foi considerada o título de anticorpos neutralizantes da amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, as amostras de soro foram submetidas à inativação do complemento em banho-maria a 56°C por 30 min, porém, como nos primeiros testes, a maioria das amostras apresentou-se tóxica aos cultivos celulares, optou-se por um processo adicional de inativação a 65 °C por 30 min (SHIRAISHI & HIRAYAMA, 2015). Com isso, a toxicidade das amostras foi eliminada.

Os resultados dos testes de SN demonstraram a presença de anticorpos neutralizantes contra o CHV-1, em frequência e títulos variáveis nas amostras das diferentes origens (Tabela

1). Os maiores índices de positividade foram observados nas amostras de cães atendidos no HVU/UFSM (79,5%), seguido pelos abrigo de Passo Fundo (72,4%) e Cachoeira do Sul (68,3%), e dos cães domiciliados coletados durante a campanha de vacinação antirrábica de Santa Maria (57,2%). Além disso, 41,8% das amostras coletadas de cães em Porto Alegre apresentavam anticorpos para o CHV-1. Os títulos de anticorpos inferiores a 4 foram considerados negativos para anticorpos.

Cabe ressaltar que o presente estudo não teve por objetivo determinar a prevalência da infecção, e sim, investigar a circulação do agente nas populações estudadas. Por isso, foi utilizada uma amostragem de conveniência, testando-se amostras obtidas com diferentes finalidades e em diferentes locais. Dentre os grupos/origens testados, as amostras obtidas no HVU/UFSM e em um laboratório clínico veterinário de Porto Alegre eram de animais domiciliados que foram encaminhados para atendimento clínico ou pré-cirúrgico. Portanto não se pode estabelecer se esses animais possuíam sinais clínicos compatíveis com os desenvolvidos por cães infectados pelo CHV-1, ou se eram animais hígidos, submetidos à testes sorológicos/enzimáticos previamente às cirurgias eletivas e/ou terapêuticas.

De qualquer forma, independente do estado clínico desses animais no momento da coleta das amostras, a ocorrência de anticorpos nesses grupos foi elevada (79,5% no HVU/UFSM e 41,8% do laboratório de Porto Alegre). Os títulos de anticorpos foram expressivos, uma vez que a maioria das amostras apresentou títulos superiores a 128. Esses resultados demonstram que uma grande parcela desses animais já teve contato com o CHV-1, sendo que os títulos elevados sugerem exposição recente ao vírus (RIJSEWIJK et al., 1999).

As amostras obtidas durante a campanha de vacinação antirrábica de Santa Maria em 2015 foram coletadas aleatoriamente de cães de diferentes bairros da cidade. Todos os animais amostrados tinham idade superior a 12 meses e não apresentavam sinais clínicos de doenças infecciosas no momento da coleta. Assim, a presença de anticorpos em 57,2% desses

animais, indica uma circulação frequente do CHV-1 em animais domiciliados de Santa Maria. Além disso, um grande número dos animais possuía títulos elevados de anticorpos (acima de 256), indicando também a circulação recente do vírus nessa população.

As amostras de Passo Fundo e Cachoeira do Sul eram provenientes de abrigos de cães. O percentual de cães sorologicamente positivos para o CHV-1 nestes locais pode estar relacionado à grande circulação e concentração de animais nestes locais, com frequente introdução de novos animais, bem como o estreito contato entre os cães, o que favorece a disseminação de doenças infecciosas (RONSSE et al., 2004; SANTOS, 2014). Considerando-se que não existem vacinas contra o CHV-1 em uso no Brasil, a presença de anticorpos revela exposição prévia ao agente. Além disso, revela a condição de portador uma vez que os animais infectados por herpesvírus tornam-se portadores da infecção latente (SHERDING, 2008; FRANCO et al., 2012).

A Figura 1 apresenta a ocorrência e distribuição dos títulos de anticorpos neutralizantes contra o CHV-1 de acordo com a origem das amostras. A prevalência de anticorpos contra o CHV-1 na maioria dos locais estudados é similar aos resultados apresentados em um trabalho realizado em Porto Alegre, em um canil com cães em idade reprodutiva, onde a prevalência de anticorpos, detectados pela técnica de SN foi de 69,2% (CARGNELUTTI et al., 2015). No entanto, no caso descrito por CARGNELUTTI et al. (2015), um grande número de cães apresentou doença clínica e o vírus foi isolado dos tecidos dos animais que morreram em decorrência da infecção.

Vários estudos sorológicos têm sido descritos em outros países, onde foram detectadas frequências variáveis de animais soropositivos para o CHV-1: 14,6% em cães da Itália atendidos em clínicas/laboratórios (PRATELLI et al., 2014), 20,7% em cães domiciliados e de canis no Iran (BABAEI et al., 2010) e 22% em canis de reprodução na África do Sul (NOTHLING et al., 2008). Por outro lado, uma investigação sorológica

conduzida em cães em um canil na Holanda (RIJSEWIJK et al., 1999), e outra em cães domiciliados e de canis na Bélgica (RONSSE et al., 2002) indicaram percentuais de positividade (42,1% na Holanda e 45,75% na Bélgica) similares aos obtidos nas amostras provenientes de Porto Alegre e Cachoeira do Sul, embora ainda sejam inferiores à média de soropositivos detectados no presente trabalho (66,4%).

Devido à dificuldade de diagnóstico, há pouco interesse e incentivos para a produção de vacinas comerciais (POULET et al., 2001; GREENE, 2012). Diferentemente, em alguns países da Europa, onde existe a comercialização de vacinas, a imunização em cães reduz a excreção do vírus, controla a disseminação para outros animais susceptíveis e em fêmeas reduz as perdas de filhotes. Por isso, a vacinação é a opção preferencial para proteger contra a doença (POULET et al., 2001).

Como anteriormente descrito, a circulação do CHV-1 já foi evidenciada no RS e em outras partes do Brasil, porém, as poucas investigações descritas na literatura foram realizadas em casos isolados, com detecção do agente durante a fase clínica da doença ou pelos achados de necropsia (OLIVEIRA et al., 2009; AVILA et al., 2011; SANTOS, 2014; CARGNELUTTI et al., 2015). No entanto, a investigação sorológica é a mais indicada para verificar a distribuição do CHV-1 nas populações de cães, uma vez que, em animais infectados, os anticorpos para o CHV-1 permanecem durante toda a vida do animal, similar às demais infecções por herpesvírus (APPEL, 1987; SHERDING, 2008; FRANCO et al., 2012). Assim, considerando que não há vacinação para essa enfermidade no Brasil, a presença de anticorpos indica infecção pelo CHV-1 (SHERDING, 2008). Na realidade, a soropositividade para CHV-1 indica não apenas a exposição anterior ao vírus como a condição de portador latente (APPEL, 1987; RONSSE et al., 2004). Portanto, esses percentuais sorológicos revelam a existência de um grande contingente de animais portadores (RONSSE et al., 2004; DAHLBOM et al., 2009).

A latência é uma característica típica dos herpesvírus, assim, uma vez infectado, o animal permanece portador do vírus na sua forma latente, possibilitando a transmissão viral entre os hospedeiros susceptíveis, durante os episódios de reativação da replicação viral (FRANCO et al., 2012). A reativação da replicação viral muitas vezes não é acompanhada de sinais clínicos, dessa maneira, salienta-se a importância de animais assintomáticos na transmissão do CHV-1 na população canina e manutenção do vírus no ambiente (LEDBETTER, 2013; GREENE, 2012).

CONCLUSÃO

Os resultados dos testes sorológicos indicam a ampla circulação do CHV-1 nas populações de cães domiciliados de Santa Maria e Porto Alegre, bem como em abrigos de Passo Fundo e Cachoeira do Sul e pode indicar a necessidade da adoção de medidas profiláticas, incluindo a vacinação.

AGRADECIMENTOS

Ao Hospital Veterinário Universitário de Santa Maria (HVU/UFSM), aos coordenadores dos abrigos de Passo Fundo e Cachoeira do Sul e ao laboratório clínico da Universidade do Rio Grande do Sul pelo fornecimento das amostras. À equipe do Setor de Virologia (SV/UFSM) pelo auxílio na coleta das amostras. Augusti, L.M., Cargnelutti, J.F., Monteiro, F.L., Flores, E.F. e Weiblen, R. são bolsistas do CNPq.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Todos os procedimentos envolvendo animais foram realizados conforme as normas da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (COBEA), e aprovado pelo CEUA/UFSM (n° 080/2014).

REFERÊNCIAS

APPEL, M.G. Canine herpesvirus. In APPEL, M.G. **Virus Infections of Carnivores**. 1 ed. New York: Elsevier, 1987. Cap. 1, p.5-15.

AVILA, V.P.F. et al. Herpesvirus canino em filhotes da raça Golden Retriever– Relato de caso. **Revista Clínica Veterinária**, n.92, p.52-56, 2011.

BABAEI, H. et al. Serological evidence of canine herpesvirus-1 in dogs of Kerman city, South-east of Iran. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.57, p.348-351, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20642493>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: 10.1111/j.1865-1682.2010.01155.

CARMICHAEL, L.E; GREENE, C.E. Canine herpesvirus infection. In: GREENE, C.E. (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3 ed. Philadelphia, Elsevier, cap. 5, p. 47-53. 2006.

CARGNELUTTI, J.F. et al. Outbreaks of canid herpesvirus 1 disease in puppies in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.6, p.557-561, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2015000600557> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: 0.1590/S0100-736X2015000600012.

DAHLBOM, M. et al. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and *Brucellacanis* in finnish breeding kennels with and without reproductive problems. **Reproduction in domestic animals**, v.44, p.128-31, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18992103>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.01008.x.

DAVISON, A.J. et al. The Order *Herpesvirales*. **Archives of Virology**, v.154, p.171–177, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19066710>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: 10.1007/s00705-008-0278-4.

FRANCO, A.C. et al. *Herpesviridae*. In: FLORES, E.F. **Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 2ed. Editora UFSM, p.503-570, 2012.

GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4ed. Saint Louis: Elsevier, cap. 5, p. 48-54, 2012.

ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. **Virus Taxonomy**: 2014 Release. <<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>> Acessado em 20 de Janeiro de 2015.

KROGENAES, A. et al. A serological study of canine herpesvirus-1 infection in a population of breeding bitches in Norway. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.56, p.6-7, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24694206>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: 10.1186/1751-0147-56-19.

LEDBETTER, E.C. Canine herpesvirus-1 ocular disease of mature dogs. **New Zealand Veterinary Journal**, v.61, p.1-9, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23438442>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: 10.1080/00480169.2013.768151.

MONTEIRO, F.L. et al. Detection of respiratory viruses in shelter dogs maintained under different environmental conditions. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.4, p.876–881, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5052379/>> Acesso em: 27 ago 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.07.002>.

NOTHLING, J.O. et al. Seroprevalence of canine herpesvirus in breeding kennels in the Gauteng Province of South Africa. **Theriogenology**, v.69, p.276–282, 2008. Disponível em: <[http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X\(07\)00574-2/abstract](http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X(07)00574-2/abstract)> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.022>.

OLIVEIRA, E.C. et al. Achados clínicos e patológicos em cães infectados naturalmente por herpesvírus canino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, p.637-642, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2009000800007> . Acesso em: 27 mai. 2016. doi: 10.1590/S0100-736X2009000800007.

POULET, H. et al. Protection of puppies against canine herpesvirus by vaccination of the dams. **Veterinary Record**, v.148, p.691-695, 2001. Disponível em: <<http://veterinaryrecord.bmj.com/content/148/22/691>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: doi:10.1136/vr.148.22.691.

PRATELLI, A. et al. Serological and virological detection of canine herpesvirus-1 in adult dogs with and without reproductive disorders. **Veterinary Journal**, v.200, p.257-260, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023314000860>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.03.001.

RIJSEWIJK, F.A.M. et al. Prevalence of antibodies against canine herpesvirus in dogs in The Netherlands in 1997-1998. **Veterinary Microbiology**, v.65, p.1-7, 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113598002855>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi: 10.1016/S0378-1135(98)00285-5.

RONSSSE, V. et al. Risk factors and reproductive disorders associated with canine herpesvirus-1. **Theriogenology**, v.61, p.619-636, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14698053>> Acesso em: 27 mai. 2016. [http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00249-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00249-8).

RONSSSE, V. et al. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in the Belgian dog population in 2000. **Reproduction in Domestic Animals**, v.37, p.299–304, 2002. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1439-0531.2002.00363.x/pdf>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi:10.1046/j.1439-0531.2002.00363.x.

SANTOS, T.R. **Detecção molecular do herpesvírus canino tipo 1 em cadelas com histórico de desordens reprodutivas no sudeste do Brasil**. 2014. 41f. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia.

SHERDING, R.G. Doenças virais variadas. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders: Clínica de pequenosanimais**. 3 ed. São Paulo: Roca, Cap.16, p.177-178, 2008.

SHIRAISHI, R.; HIRAYAMA, N. Cytotoxicity associated with prolonged room temperature storage of serum and proposed methods for reduction of cytotoxicity. **Journal of Virological Methods**, v.225, p.16–22, 2015. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26335960>> Acesso em: 27 mai. 2016. doi:
10.1016/j.jviromet.2015.08.018.

Tabela 1. Anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus canino tipo 1 em soro de cães de acordo com as diferentes localidades/origens.

Origem	Total de amostras (n)	Positivas (%)	Títulos neutralizantes
Santa Maria (Campanha de vacinação)	381	218 (57,2)	4 a \geq 256
Santa Maria (Hospital Veterinário/UFSM)	332	264 (79,5)	4 a \geq 256
Porto Alegre (Laboratório Clínico)	43	18 (41,8)	64 a \geq 256
Passo Fundo (Abrigo)	98	71 (72,4)	8 a \geq 256
Cachoeira do Sul (Abrigo)	60	41 (68,3)	32 a \geq 256
Total	914	612 (66,9)	4 a \geq 256

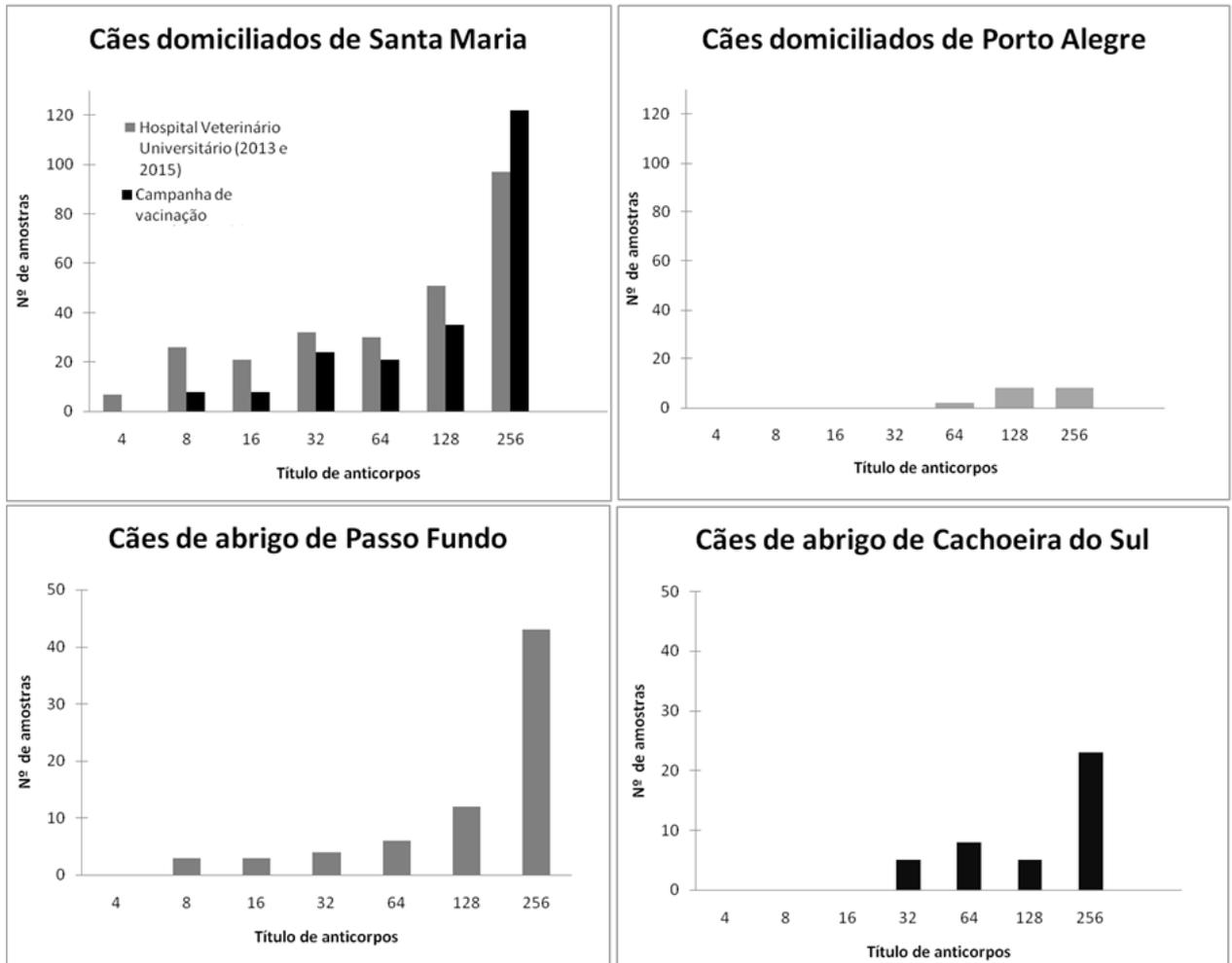


Figura 1: Distribuição dos títulos de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus canino tipo 1 em cães domiciliados de Santa Maria e Porto Alegre e em cães de abrigos de Passo Fundo e Cachoeira do Sul.

3. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta dissertação demonstraram a ocorrência de anticorpos contra o herpesvírus canino tipo 1 (CHV-1) em amostras de soro de cães domiciliados (de Santa Maria e Porto Alegre) e de abrigos (de Passo Fundo e Cachoeira do Sul), indicando a ampla circulação do CHV-1 nas localidades estudadas.

REFERÊNCIAS

- ACAR, A. et al. A serologic investigation of canine herpesvirus type 1 infection in Kangal dogs. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.8, n.7, p.1377-1380, 2009.
- AVILA, V.P.F. et al. Herpesvirus canino em filhotes da raça Golden Retriever– Relato de caso. **Revista Clínica Veterinária**, n.92, p.52-56, 2011.
- CARMICHAEL, L.E; GREENE, C.E. Canine herpesvirus infection. In: GREENE, C.E. (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3 ed. Philadelphia, Elsevier, cap. 5, p. 47-53. 2006.
- CARMICHAEL, L.E; BARNES, F.D; PERCY, D.H. Temperature as a factor in resistance of young puppies to canine herpesvirus. **Journal of Infectious Diseases**, v.120, p.669-678, 1969.
- CARMICHAEL, L.E; SQUIRE, R.A; KROOK, L. Clinical and pathologic features of a fatal viral disease of newborn pups. **American Journal of Veterinary Research**, v.26, p.803-814, 1965.
- CARGNELUTTI, J.F. et al. Outbreaks of canid herpesvirus 1 disease in puppies in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n.6, p.557-561, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2015000600557>. Acesso em: 27 mai. 2016.
- CORNWELL, H.J.C; WRIGHT, N.G. Neonatal canine herpesvirus infection: A review of present knowledge. **Veterinary Records**, v.84, p.2-6, 1969. Disponível em: <<http://veterinaryrecord.bmj.com/content/84/1/2>>. Acesso em: 18 set. 2016.
- DAHLBOM, M. et al. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and *Brucellacanis* in finnish breeding kennels with and without reproductive problems. **Reproduction in domestic animals**, v.44, p.128-31, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18992103>>. Acesso em: 27 mai. 2016.
- DAVISON, A. J. et al. The order *Herpesvirales*. **Archives of Virology**, v.154, p.171–177, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19066710>>. Acesso em: 27 mai. 2016.
- DECARO, N; MARTELLA, V; BUONAVOGLIA, C. Canine adenoviruses and herpesvirus. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.38, p.799-814, 2008. Disponível em: [http://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616\(08\)00068-5/pdf](http://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616(08)00068-5/pdf)>. Acesso em: 16 out. 2016.
- DEZENGRINI, R. et al . Atividade de três drogas antivirais sobre os herpesvírus bovino tipos 1, 2 e 5 em cultivo celular. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.10, p.855-860, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v30n10/a15v30n10.pdf>>. Acesso em: 16 nov. 2015.
- EVERMANN, J.F; LEDBETTER, E.C; MAES, R.K. Canine reproductive, respiratory, and ocular diseases due to canine herpesvirus. **Veterinary Clinics**

of **North America: Small Animal Practice**, v.41, p.1097-1120, 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561611001562>>. Acesso em: 16 out. 2016.

FOSTER, R.A. Male reproductive system, In: McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. (Ed.), **Pathologic Basis of Veterinary Disease**, 4th ed. Elsevier, Saint Louis, p.1317-1348, 2007.

GALOSI, C.M. Herpesvirus canino 1: Agente etiológico y enfermedad. **Analecta Veterinaria**, v.27, p.5-12, 2007. Disponível em: <http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/11202/Documento_completo___pdf?sequence=1>. Acesso em: 12 jan. 2015.

GREENE, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. 4ed. Saint Louis: **Elsevier**, cap. 5, p. 48-54, 2012.

ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. **Virus Taxonomy**: 2015 Release. <<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp> > Acessado em 20 de Janeiro de 2015.

KROGENAES, A. et al. A serological study of canine herpesvirus-1 infection in a population of breeding bitches in Norway. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.56, p.6-7, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24694206>>. Acesso em: 27 mai. 2016.

LEDBETTER, E. C. Canine herpesvirus-1 ocular disease of mature dogs. **New Zealand Veterinary Journal**, v.61, p-1-9, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23438442>> Acesso em: 27 mai. 2016.

LOVE, D. N; HUXTABLE, C. R. Naturally-occurring neonatal canine herpesvirus infection. **Veterinary Records**, v.99, p.501-503, 1976. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/189479>>. Acesso em 30 out. 2016.

NOTHLING, J.O. et al. Seroprevalence of canine herpesvirus in breeding kennels in the Gauteng Province of South Africa. **Theriogenology**, v.69, p.276–282, 2008. Disponível em: <[http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X\(07\)00574-2/abstract](http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X(07)00574-2/abstract)>. Acesso em: 27 mai. 2016.

MAGGS, D.J; CLARKE, H.E. In vitro efficacy of ganciclovir, cidofovir, penciclovir, foscarnet, idoxuridine and acyclovir against feline herpesvirus type-1. **American Journal of Veterinary Research**, v. 65, n.4, p.399-403, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15077679>>. Acesso em: 16 nov. 2015.

OLIVEIRA, E. C. et al. Achados clínicos e patológicos em cães infectados naturalmente por herpesvírus canino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, p.637-642, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2009000800007> . Acesso em: 27 mai. 2016.

PALMA, V.E. et al. An atypical clinical presentation for the first isolation of Canid herpesvirus 1 in Argentina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n.5, p.1267-1270, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v62n5/34.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2016.

PRATELLI, A.; COLAO, V.; LOSURDO, M. Serological and virological detection of canine herpesvirus-1 in adult dogs with and without reproductive disorders. **Veterinary Journal**, v.200, p.257-260, 2014. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023314000860>>. Acesso em: 27 mai. 2016.

READING, M.J.; FIELD, H.J. Detection of high levels of canine herpes virus-1 neutralising antibody in kennel dogs using a novel serum neutralisation test. **Research in Veterinary Science**, v.66, p.273-5, 1999. Disponível em <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10333471>>. Acesso em: 23 out. 2016

RIJSEWIJK, F.A.M. et al. Prevalence of antibodies against canine herpesvirus 1 in dogs in The Netherlands in 1997-1998. **Veterinary Microbiology**, v.65, p.1-7, 1999.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113598002855>> Acesso em: 27 mai. 2016.

ROIZMAN, B. et al. The family *Herpesviridae*: An update. The herpesvirus study group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Archives of Virology**, v.123, p.425-449, 1992. Disponível em: < www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1562239>. Acesso em: 27 mai. 2016.

ROIZMAN, B.; BAINES, J. The diversity and unity of *Herpesviridae*. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.14, p.63-79, 1991. Disponível em:< www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1935001>. Acesso em: 27 mai. 2016.

RONSSSE, V. et al. Canine herpesvirus-1 (CHV-1): clinical, serological and virological patterns in breeding colonies. **Theriogenology**, v.64, p.61-74, 2005. Disponível em: < www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15935843>. Acesso em: 27 mai. 2016.

RONSSSE, V. et al. Risk factors and reproductive disorders associated with canine herpesvirus-1. **Theriogenology**, v.61, p.619-636, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14698053>> Acesso em: 27 mai. 2016.

RONSSSE, V. et al. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in the Belgian dog population in 2000. **Reproduction in Domestic Animals**, v.37, p.299-304, 2002. Disponível em: <www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12354184>. Acesso em: 27 mai. 2016.

SANTOS, T.R. **Detecção molecular do herpesvírus canino tipo 1 em cadelas com histórico de desordens reprodutivas no sudeste do Brasil**, 2014. 41f. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia.

SHERDING, R.G. Doenças virais variadas. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders: Clínica de pequenosanimais**, 3 ed. São Paulo: Roca, Cap.16, p.177-178, 2008.

YESILBAG, K. et al. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in Turkish dog population. **Research in Veterinary Science**, v.92, p.36-39, 2012. Disponível em: < www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21075406>. Acesso em: 27 mai. 2016.