

**GIVALDO BOM DA SILVA FILHO**

**HERPESVÍRUS EM EQUÍDEOS NO BRASIL**

**RECIFE**

**2021**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**GIVALDO BOM DA SILVA FILHO**

**HERPESVÍRUS EM EQUÍDEOS NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Pró-Reitoria de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça

Coorientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Leite Souza

**RECIFE**

**2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S586h

Silva-Filho, Givaldo Bom

HERPESVÍRUS EM EQUÍDEOS NO BRASIL / Givaldo Bom Silva-Filho. - 2021.  
51 f. : il.

Orientador: Fabio de Souza Mendonca.

Coorientador: Fracisco de Assis Leite Souza.

Inclui referências e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Recife, 2021.

1. Alphaherpesvirinae. 2. equino. 3. balanopostite. 4. PCR. 5. diagnóstico. I. Mendonca, Fabio de Souza, orient. II. Souza, Fracisco de Assis Leite, coorient. III. Título

CDD 636.089

---

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**HERPESVÍRUS EM EQUÍDEOS NO BRASIL**

Dissertação de Mestrado elaborada por

**GIVALDO BOM DA SILVA FILHO**

Aprovada em ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA**

.....

Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça

Orientador - Universidade Federal Rural de Pernambuco

.....

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto

Membro - Universidade Federal Rural de Pernambuco

.....

Prof. Dr. Valdir Morais de Almeida

Membro - Universidade Federal de Campina Grande

Dedico esta dissertação à minha esposa  
Hisadora e meus filhos Miguel e Samuel.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Senhor meu Deus, muito obrigado por ter me dado a vida, por ter permitido chegar onde estou, sem Ti, eu nada seria.

À minha amada esposa Hisadora Chaves, por todo o amor, apoio, companheirismo e dedicação, sou muito grato por além de tudo tê-la como companheira de trabalho.

Aos meus amados pais Givaldo Bom e Célia Costa, obrigado por sempre estarem presentes em minha vida e terem se esforçado para que pudesse alcançar meus sonhos.

Ao meu orientador e amigo Prof. Fábio Mendonça, sou grato por todas as oportunidades a mim oferecidas, todos os conselhos e ensinamentos.

Ao meu Co-orientador Prof. Francisco Leite, obrigado por todos os ensinamentos e ser tão solícito em auxiliar a execução do presente estudo.

Aos meus sogros, Hermínia Neta e Otávio Chaves, obrigado por todo apoio e compreensão.

Ao professor Joaquim Evêncio por permitir a utilização do laboratório juntamente aos Professores Fábio Mendonça e Francisco Leite.

A todos os amigos do Laboratório Maria Edna, Silvio Castillo, João Paulo, Rodrigo Pontes e demais integrantes da equipe por todas as trocas de conhecimentos e ajuda em momentos difíceis.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco por todas as oportunidades oferecidas desde a Graduação.

As instituições de apoio a pesquisa CAPES, CNPq e FACEPE por todo o apoio financeiro por meio de concessão de bolsas desde meu período de iniciação científica, sendo fundamental o auxílio financeiro promovido pelo CNPq para minha permanência no programa de pós graduação e desenvolvimento deste trabalho.

*“Nunca se sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados” (Mahatma Gandhi)*

## RESUMO

Objetivo desta dissertação é descrever a ocorrência de um surto de exantema coital provocado por alfaherpesvírus equino 3 (EHV-3), no Estado Rio Grande do Norte. O efetivo de equídeos nacional é estimado em 5.228.434 cabeças, sendo estas compostas por 4.236.062 equinos (81%), 615.498 muares (11,8%) e 376.874 asininos (7,2%). Dentre as importantes causas de prejuízos econômicos para a cultura de equídeos, destaca-se os distúrbios respiratórios e reprodutivos, estes muitas vezes estão associados à infecções por herpesvírus. Cinco diferentes herpesvírus causam doença clínica em equinos domésticos sendo estes os alfaherpesvírus equinos 1,3 e 4 (EHV-1, EHV-3 e EHV-4) e os gammaherpesvírus equinos 2 e 5 (EHV-2 e (EHV-5). Estima-se que 80–90% dos equinos com até 2 anos de idade já tenham sido infectados por EHV-1 e/ou EHV-4. Estes provocam abortos, lesões respiratórias e mieloencefalopatia nos seus hospedeiros. No Brasil estes agentes são endêmicos, porém não há diagnóstico do EHV-4 como causador de enfermidades, havendo apenas evidências sorológicas de sua presença. A prevalência de anticorpos para esses agentes demonstra que os asininos e muares, mesmo sendo raramente afetados clinicamente, apresentam fundamental importância na disseminação do EHV-1 e EHV-4 em plantéis. EHV-3 é responsável por causar uma doença reprodutiva chamada de exantema coital equino (ECE). Esta doença é caracterizada por úlceras nas regiões genitais, asininos e muares podem ser afetados. As gammaherpesviroses EHV-2 e EHV-5 têm sido mais recentemente estudadas, esta última associada a importantes danos pulmonares em equinos, caracterizada como por grave fibrose pulmonar multinodular em equinos, suspeita-se que essa seja uma nova enfermidade emergente. Não há no Brasil diagnóstico de herpesviroses que tenham asininos como hospedeiro. O surto descrito ocorreu em um haras na região semiárida do Estado do Rio Grande do Norte. Os principais sinais clínicos consistiram em anorexia, hiporexia, secreção fibrinosa ou purulenta na mucosa do pênis e vagina. Duas éguas apresentavam lesões discretas que consistiam em cicatrizes na mucosa da vagina e na região perivulvar. Em um garanhão, a doença consistia em úlceras umbilicadas-exantematosas severas, histologicamente prepúcio com dermatite necrosante com acantose com alguns queratinócitos contendo corpúsculo de inclusão eosinofílico intranuclear, notável infiltrado inflamatório e perivasculite. O DNA do EHV-3 foi amplificado em amostras de sangue e mucosa do pênis pela técnica de PCR. Este é o primeiro relato de diagnóstico molecular de exantema coital equino afetando cavalos no Nordeste do Brasil. Novos estudos devem ser realizados a fim de investigar a epidemiologia e a importância dessa doença herpética no país.

**Palavras-chave:** *Alphaherpesvirinae*, equino, balanopostite, PCR, diagnóstico.



## ABSTRACT

Objective of this dissertation describes the occurrence of an outbreak of coital exanthema caused by alphaherpesvirus equine 3 (EHV-3), in the State of Rio Grande do Norte. The national equine herd is estimated at 5,228,434 heads, comprising 4,236,062 horses (81%), 615,498 mules (11.8%) and 376,874 donkeys (7.2%). Among the important causes of economic damage to an equine culture, respiratory and reproductive disorders stand out, often associated with herpesvirus infection. Five different herpesviruses cause clinical disease in domestic horses, these being equine alphaherpesviruses 1,3 and 4 (EHV-1, EHV-3 and EHV-4) and equine gammaherpesviruses 2 and 5 (EHV-2 and (EHV-5). It is estimated that 80–90% of horses aged up to 2 years old have already been infected with EHV-1 and / or EHV-4. These cause abortions, respiratory accidents and myeloencephalopathy in their hosts. there is no diagnosis of EHV-4 as a cause of disease, with only serological evidence of its presence. The prevalence of these agents demonstrates that donkeys and mules, even though clinically affected, are of fundamental importance in the spread of EHV-1 and EHV-4 in herds. EHV-3 is responsible for causing a reproductive disease called equine coital exanthema (ECE). This disease is characterized by ulcers in the genital regions, donkeys and many can be affected. Gammaherpesvirosis EHV-2 and EHV-5 have been more recently studied, the latter associated with important pulmonary damage in horses, characterized by severe multinodular pulmonary fibrosis in horses, it is suspected that this is a new emerging disease. In Brazil, there is no diagnosis of herpesvirus infections that have donkeys as a host. The outbreak described occurred in a farm in the semi-arid region of the State of Rio Grande do Norte. The main clinical signs consisted of anorexia, hyporexia, fibrinous or purulent secretion in the mucosa of the penis and vagina. Two mares had discrete lesions that consisted of scars on the mucosa of the vagina and on the perivulvar region. In a stallion, the disease consisted of severe umbilicated-exanthematous ulcers, histologically foreskin with necrotizing dermatitis with acanthosis with some keratinocytes containing intranuclear eosinophilic inclusion corpuscle, notable inflammatory infiltrate and perivasculitis. The DNA of EHV-3 was amplified in blood and mucosa samples from the penis by the PCR technique. This is the first report of molecular diagnosis of equine coital rash affecting horses in Northeast Brazil. New studies must be carried out in order to investigate the epidemiology and the importance of this herpetic disease in the country.

**Keywords:** *Alphaherpesvirinae*, equine, balanoposthitis, PCR, diagnosis.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1 Características gerais dos Herpesvírus.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2 Herpesvírus de equídeos.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3 Alfaherpesviroses em equídeos.....</b>	<b>13</b>
2.3.1 Alfaherpesvírus equino 1 (EHV-1) e 4 (EHV-4).....	13
2.3.2 Alfaherpesvírus equino 3 (EHV-3) e 6 (EHV-6).....	21
2.3.3 Alfaherpesvírus equino 8 (EHV-8).....	24
<b>2.4 Gamaherpesviroses em equídeos.....</b>	<b>24</b>
2.4.1 Gamaherpesvírus equino 2 (EHV-2) e 5 (EHV-5).....	24
2.4.2 Herpesvírus asinino 4 (AHV-4) e 5 (AHV-5).....	27
<b>3. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>28</b>
<b>4. ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1 Exantema coital equino causado por alfaherpesvírus equino 3: relato de um surto no Nordeste do Brasil.....</b>	<b>37</b>
<b>5. ANEXOS.....</b>	<b>46</b>
<b>5.1 Anexo 1 – Normas da revista.....</b>	<b>46</b>
<b>5.2 Anexo 2 – Carta de aceite do artigo na revista Pesquisa Veterinária Brasileira.....</b>	<b>51</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O efetivo de equídeos no Brasil é estimado em 5.228.434 cabeças, estas compostas por 4.236.062 equinos (81%), 615.498 muares (11,8%) e 376.874 asininos (7,2%). A região Sudeste concentra a maior quantidade de equinos, sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor com 715.863 animais, o equivalente a 17% do plantel nacional. Grande quantitativo de muares está situado nas regiões Centro-Oeste e Nordeste, tendo como principal produtor o estado da Bahia com aproximadamente 14% da produção nacional. A população de asininos concentra-se na região Nordeste do país e tem maior distribuição nos estados da Bahia (25%), Ceará (14%), Piauí (13,5%), Maranhão (11%), Paraíba (8,1%) e Pernambuco (7%) (IBGE, 2017).

A criação de equídeos gera uma movimentação importante de capital através da comercialização nacional e internacional (MAPA, 2016). Este fator aliado a questão cultural que envolve estas tropas, a exemplo dos asininos para o sertanejo nordestino e as tropas para a condução do gado no pantanal, além das atividades esportivas, laborais, de lazer e terapêuticas (equoterapia), tem levado a uma valorização crescente desses animais. Devido a importância destas espécies para a economia, faz-se necessária a busca de estudos que enfatizem o bem estar, o levantamento epidemiológico de doenças, métodos de tratamentos mais eficazes para que se diminuam as perdas produtivas ocasionadas pela mortalidade dos animais ou diminuição de índices produtivos (PIEREZAN, 2009).

Dentre as importantes causas de prejuízos para a cultura de equídeos destacam-se os distúrbios respiratórios e reprodutivos, estes problemas muitas vezes estão associados à herpesvíroses (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; GULATI et al., 2019). Os herpesvírus de equídeos de uma forma geral estabelecem infecções latentes, podendo ser reativados em condições de queda na imunidade provocada por estresse decorrente do manejo, administração de corticoides, gestação ou doenças concomitantes (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; GULATI et al., 2019). O que facilita a disseminação dos patógenos dentro da população de equídeos e estudos têm demonstrado a importância dessas doenças herpéticas para o rebanho brasileiro (LARA et al., 2017; AGNOL et al., 2019; ESTIMA-SILVA et al., 2019; FINGER et al., 2020).

O correto diagnóstico das enfermidades é de fundamental importância para a sanidade das tropas e estudos científicos sobre os agravos a saúde destes, relacionados a determinação dos possíveis agentes etiológicos, através de técnicas histológicas, testes moleculares e sorológicos, têm sido de suma importância para a compreensão dos seus efeitos sobre a saúde

dos animais afetados, bem como as populações expostas, colaborando assim para a elaboração de métodos preventivos mais eficientes e reduzindo impactos deletérios na produção.

Devido a importância dos herpesvírus de equídeos e seus impactos sobre a criação de animais, o objetivo desta dissertação é reportar um surto de Alfaherpesvírus equino 3 como causador de exantema coital em equinos no Rio Grande do Norte, Brasil.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Características gerais dos Herpesvírus**

Os herpesvírus já foram identificados em várias espécies de vertebrados e invertebrados, sendo provável que todas as espécies de vertebrados possam ser suscetíveis à infecção por esse grupo de vírus. Dentre as espécies domésticas, muitas doenças importantes que afetam os animais são resultadas da infecção por herpesvírus. Para animais de produção destacam-se a rinotraqueíte infecciosa bovina (Herpesvírus Bovino tipo 1), a pseudo-raiva (Herpesvírus Suíno tipo 1) e doença de Marek (Gallid Herpesvirus 2) (DAVISON et al., 2009; MACLACHLAN & DUBOVI, 2017).

Todos os herpesvírus apresentam por características em comum a morfologia, genoma linear e DNA fita dupla. São vírions esféricos, envelopados e variam de 120 a 200 nm de diâmetro, seu material genético é recoberto por um capsídeo icosaédrico (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; PILZ, 2018) e são classificados como membros da ordem *Herpesvirales* sendo subdivididos de acordo com as suas características genômicas em 3 famílias distintas: *Herpesviridae*, *Alloherpesviridae* e *Malacoherpesviridae*. A família *Herpesviridae* está subdividida em três subfamílias, *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*, esta família tem grande importância para a medicina veterinária, pois estão presentes os herpesvírus associados a infecção em mamíferos, aves e répteis (DAVISON et al., 2009).

Os vírions não são resistentes em condições extracorporais, podendo ser facilmente inativados, sendo sensíveis a detergentes e solventes lipídicos (PILZ, 2018; GULATI et al., 2019). Por serem instáveis no meio ambiente, a principal forma de transmissão está relacionada ao contato entre mucosas com a rápida passagem do agente entre hospedeiros suscetíveis, principalmente pelo contato sexual e lambedura entre mães e neonatos. Condições de elevada densidade populacional favorecem a rápida disseminação, sendo evidenciada principalmente em criações extremamente tecnificadas, como em criações confinadas na suinocultura. Fatores

ambientais também podem favorecer a transmissão do agente entre plantéis, situados a longas distâncias como a ausência de luminosidade solar (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017).

O fator determinante para a manutenção de herpesvírus em populações suscetíveis está relacionado ao mecanismo de latência, onde animais podem passar um período significativo de tempo sem transmitir as enfermidades. Porém, em condições relacionadas a estresse ou imunossupressão, podem voltar a transmitir os vírus. Nestas condições, a expressão de genes virais é altamente restrita havendo a expressão de poucas ou nenhuma proteína viral. Desta forma, a infecção latente em animais que não apresentam sinais aparentes de doença, representa um reservatório viral constante, visto que esses animais muitas vezes não são diagnosticados, porém auxiliam na manutenção viral em populações suscetíveis (JONES, 2003; SHERDING, 2008).

## **2.2 Herpesvírus de equídeos**

Herpesvíroses que afetam equídeos correspondem a um grupo de 15 herpesvírus equídeos. Destes, onze subtipos têm como hospedeiros naturais equídeos domésticos, sendo cinco responsáveis por afetar equinos, os herpesvírus 1 à 5 (EHV1–EHV5) e seis atuam sobre asininos, os herpesvírus equinos 6 à 8 e os herpesvírus asininos 4 à 6 (EHV-6-EHV-8 e AHV-4-AHV-6) (GULATI et al., 2019; CÂMARA et al., 2020). Estes herpesvírus fazem parte das subfamílias *Alphaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*, não havendo representantes da subfamília *Betaherpesvirinae*.

Esses patógenos são responsáveis por desencadear em animais suscetíveis efeitos deletérios dentre os quais pode-se destacar abortos, afecções respiratórias e neurológicas (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017). De acordo com CÂMARA et al. (2020) e GULATI et al. (2019), os herpesvírus de importância para a equideocultura podem ser caracterizados conforme o Quadro 1.

Quadro 1: Herpesvírus que afetam equídeos domésticos e doenças associadas.			
VÍRUS	Subfamília	Hospedeiro Natural	Doença
<b>EHV-1</b>	$\alpha$	<i>Equus caballus</i>	Rinopneumonite, aborto e mieloencefalopatia
<b>EHV-2</b>	$\gamma$	<i>Equus caballus</i>	Rinite, ceratoconjuntivite e apatia
<b>EHV-3</b>	$\alpha$	<i>Equus caballus</i>	Exantema coital
<b>EHV-4</b>	$\alpha$	<i>Equus caballus</i>	Rinopneumonite
<b>EHV-5</b>	$\gamma$	<i>Equus caballus</i>	Fibrose pulmonar multinodular
<b>EHV-6 (AHV-1)</b>	$\alpha$	<i>Equus asinus</i>	Exantema coital
<b>EHV-7 (AHV-2)</b>	$\gamma$	<i>Equus asinus</i>	Ausente
<b>EHV-8 (AHV-3)</b>	$\alpha$	<i>Equus asinus</i>	Rinite
<b>AHV-4</b>	$\gamma$	<i>Equus asinus</i>	Pneumonia
<b>AHV-5</b>	$\gamma$	<i>Equus asinus</i>	Pneumonia e fibrose pulmonar multinodular
<b>AHV-6</b>	$\gamma$	<i>Equus asinus</i>	Ausente

## 2.3 Alfaherpervirose em equídeos

### 2.3.1 Alfaherpessvírus equino 1 (EHV-1) e Alfaherpessvírus equino 4 (EHV-4)

Pertencem a ordem *Herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Varicellovirus* (DAVISON et al., 2009; MACLACHLAN & DUBOVI, 2017). O EHV-1 foi relatado pela primeira vez nos EUA, em um surto de aborto onde as matrizes apresentavam concomitantemente distúrbios respiratórios (DIMOCK & EDWARDS, 1936). EHV-1 e EHV-4, são clínicamente, economicamente e epidemiologicamente os patógenos mais relevantes dentro desta família, pois causam problemas à equinocultura em todo o mundo (PATEL & HELDENS, 2005). O EHV-1 é considerado a mais importante causa viral de aborto em éguas e também é a causa de doenças respiratórias e de encefalomielite (GULATI et al., 2019), sendo considerado a segunda maior causa viral de distúrbios neurológicos em equinos do Brasil (PIMENTEL et al., 2009; COSTA et al., 2015; CUNHA et al., 2016). O

EHV-4 é o mais importante dos herpesvírus que causam doença respiratória aguda em cavalos. Os potros são frequentemente infectados nas primeiras semanas de vida e o vírus circula, muitas vezes subclínicamente entre a população de éguas e potros (GULATI et al., 2019).

### a) Epidemiologia

O EHV-1 e EHV-4 correspondem aos principais herpesvírus que afetam equídeos por apresentarem maior impacto sobre as produções. Estudos têm demonstrado evidência da presença desses patógenos em todo o mundo; e estima-se que 80–90% dos equinos com até 2 anos de idade já tenham sido infectados por EHV-1 e/ou EHV-4 (ALLEN, 2008).

No Brasil o primeiro isolamento e constatação da presença do EHV-1 em equinos foi realizado por NILSON & CORRÊA (1966) no estado de São Paulo, Sudeste do Brasil. Desde então, estudos têm sido realizados para a evidência direta e indireta de EHV-1 e EHV-4, os quais já foram identificados nas regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil. Conforme apresentado na Figura 1 e quadro 2, demonstra-se que possivelmente EHV-1 e EHV-4 são endêmicos em populações equíneas do Brasil.

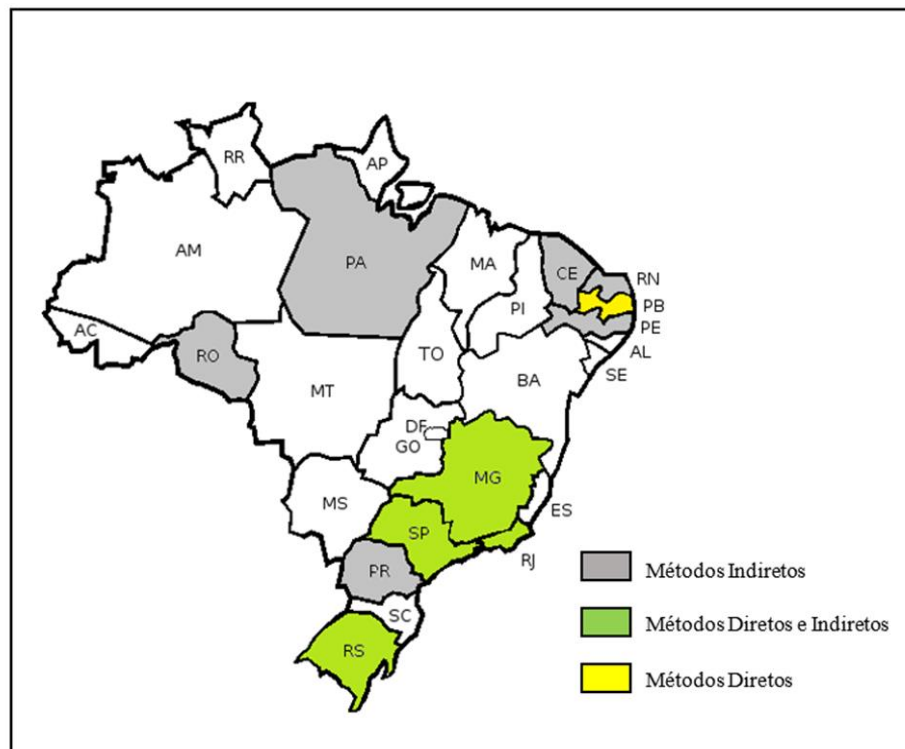


Figura 1: Mapa do Brasil evidenciando a distribuição de EHV-1 e EHV-4 segundo estudos, e os métodos de diagnóstico utilizados, os métodos indiretos são Soroneutralização e ELISA e os métodos diretos são Isolamento Viral, PCR e Imunohistoquímica.

**QUADRO 2. DETECÇÃO DE EVIDÊNCIAS DE EHV-1 E EHV-4 EM EQUÍDEOS DO BRASIL**

<i>Estado</i>	<b>Técnica e Agente pesquisados</b>	<b>Espécie</b>	<b>Autores</b>
<i>Ceará</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equinos	ALENCAR-ARARIPE et al., 2014
<i>Minas Gerais</i>	PCR EHV1	Equinos (Sêmen)	CARVALHO et al., 2000
<i>Minas Gerais</i>	PCR EHV1	Equinos (Encéfalo)	COSTA et al. 2015
<i>Rio de Janeiro</i>	PCR EHV1 e EHV4	Potros Muares (Lavado Traqueal)	PILZ, 2018
<i>Rio de Janeiro</i>	ELISA EHV4	Potros Muares	PILZ, 2018
<i>Rio de Janeiro</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equinos	DIAZ et al., 2015
<i>São Paulo e Outros</i>	Isolamento e PCR	Equídeos (Encéfalo)	CUNHA et al., 2016
<i>Rio Grande do Sul</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equinos	DIEL et al., 2006
<i>Rio Grande do Sul</i>	IHC EHV-1	Equinos (Fetos – Fígado, Pulmão e Baço)	ESTIMA-SILVA et al., 2019
<i>Rio Grande do Norte</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equinos	FERREIRA et al., 2018
<i>Pará</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equinos	HEINEMANN et al., 2002
<i>Paraná</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equinos	LARA et al., 2006
<i>Minas Gerais</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equinos e Muares	LARA et al., 2010
<i>São Paulo</i>	Vírusneutralização EHV-1	Asininos	LARA et al., 2017
<i>São Paulo</i>	PCR EHV-1	Equinos (Encéfalo)	MORI et al., 2011
<i>Paraíba</i>	IHC EHV-1	Equídeo (Encéfalo)	PIMENTEL ET AL. 2009
<i>Pernambuco</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equinos	MUNIZ et al., 2020
<i>Rio Grande do Sul</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equinos	SANGIONI et al., 2011
<i>Não Especificado</i>	Isolamento e PCR	Equinos (Fetos Abortados)	SILVA et al., 2018
<i>Não Especificado</i>	PCR	Equinos (Fetos Abortados)	SILVA et al., 2020
<i>São Paulo</i>	ELISA EHV1 e EHV4	Equinos	TORELLI, 2011
<i>Rondônia</i>	Soroneutralização EHV-1/e ou EHV-4	Equídeos	AGUIAR et al., 2008



EHV-1 e EHV-4, tem elevada similaridade genética entre si e eram considerados como herpesvírus equino 1, subtipos 1 e 2, porém após o ano de 1981 os DNAs genômicos foram comparados por análises de endonucleases de restrição. Após a identificação de diferenças no genoma o subtipo 2 foi designado como EHV-4 (OLIVEIRA, 2018). Após a constatação destas diferenças genômicas e conseqüentemente antigênicas, foi percebido que embora possuam estreita relação, há uma atuação diferente do sistema imunológico do hospedeiro sobre estes agentes, cursando com lesões e alterações clínicas distintas (TELFORD et al., 1998).

Estudos soro-epidemiológicos são dificultados na população de cavalos que foram vacinados contra EHV-1 e/ou EHV-4, pois estes passam a apresentar titulação relacionada aos vírus, mesmo sem o contato prévio dos animais com estes (AGUIAR et al., 2008).

Globalmente poucos estudos diagnósticos e epidemiológicos têm sido feitos com as populações de muares e asininos, pois a maioria dos estudos foram realizados em populações de cavalos e apenas poucos estudos, tem relatado a ocorrência de doença respiratória, aborto e mieloencefalopatia por herpesvírus em asininos e muares (CÂMARA et al., 2020). Essas espécies raramente apresentam sinais clínicos evidentes de EHV-1 e EHV-4. Porém, estudos têm demonstrado a presença de EHV-1 em secreções nasais de muares e asininos no Brasil sem sinais clínicos aparentes (PILZ, 2018), além de alta prevalência de anticorpos contra estes agentes (LARA et al., 2010; LARA et al. 2017). Esses estudos demonstraram que asininos e muares portadores de EHV-1 e EHV-4 são importantes fontes de infecção para equinos e, mesmo havendo poucos estudos nacionais relacionados à epidemiologia da doença nas populações de asininos e muares, supõe-se que estes apresentam fundamental importância na disseminação do EHV-1 em plantéis.

Existem poucos estudos relacionados a constatação direta de EHV em equídeos no Brasil, sendo na maioria relacionados ao herpesvírus equino 1 como causador de distúrbios neurológicos e abortivos, inclusive evidenciando marcadores de neuropatogenicidade em isolados brasileiros (MORI et al., 2011).

Animais que adoecem ou vão a óbito por distúrbios respiratórios muitas vezes não recebem o diagnóstico etiológico correto. Em tropas a maioria dos levantamentos sorológicos empregados não distinguem entre os EHV-1 e EHV-4, o que resulta em erros de interpretação sobre qual destes agentes tem maior envolvimento com as afecções respiratórias de equídeos do Brasil (PILZ, 2018).

## **b) Transmissão e patogenicia**

Ocorre nos EHV-1 e EHV-4 de forma análoga, como principal via de transmissão a respiratória, a partir de secreções infectantes com vírus em aerossol, porém pode ocorrer através do contato direto entre mucosas ou contato com fômites contaminados (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; GULATI et al., 2019), pode haver ainda a infecção a partir de fezes contaminadas com os vírus (SEEBER et al., 2019). Um estudo no Estado de Minas Gerais demonstrou a presença de material genético de EHV-1, em amostras de sêmen de três reprodutores, sendo associados a aborto (CARVALHO et al., 2000), evidenciando que esta pode ser uma importante forma de transmissão.

Os vírus se multiplicam no epitélio respiratório e são posteriormente carreados por leucócitos para linfonodos regionais. A partir daí se disseminam para a circulação sanguínea por monócitos e linfócitos tipo T., atingem diferentes órgãos e realizam replicação nas células endoteliais, isto pode ocorrer em vasos com relação materno fetal, encefálicos e pulmonares em infecções pelo EHV-1, estando restrita a vasos do trato respiratório superior e inferior em infecções por EHV-4, dessa forma casos de abortamento são raramente associadas a esse vírus. (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; GULATI et al., 2019).

O EHV-1 se replica nas células endoteliais do útero, e causam trombose e isquemia marcadas, que é considerada a causa primária do aborto, principalmente no terço final da gestação. O vírus pode atravessar a placenta e infectar o feto, levando ao aborto tardio (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017).

Pode haver migração para o SNC, induzindo mieloencefalite por replicação em células endoteliais, sem associação com neurônios levando ao desenvolvimento de distúrbios nervosos, condição denominada de mieloencefalopatia por herpesvírus equino (EHM), essas lesões resultam da infecção do vírus e replicação no endotélio células que revestem as arteríolas da medula espinhal e, mais raramente, do encéfalo (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; GULATI et al., 2019).

Inicialmente a encefalomielite era considerada como uma forma errática da atuação do EHV-1, porém ao longo dos anos com o crescente número de diagnóstico de lesões neurológicas associadas ao vírus, estudos foram propostos para justificar tal associação e descobriu-se que houve uma mutação do vírus na região de ORF 30 que confere alteração que permite maior tropismo pelo endotélio do SNC, justificando a elevação da neurovirulência do EHV-1 (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; GULATI et al. 2019), sendo esta variante

diagnosticada por MORI et al. (2011) no Brasil em dois de três equinos diagnosticados com EHM.

### **c) Sinais clínicos e lesões**

As doenças respiratórias causadas por EHV-1 e EHV-4 são comuns entre cavalos jovens, no período entre o desmame e 2–3 anos de idade. Primeiramente surgem alterações clínicas relacionadas ao trato respiratório superior, podendo ainda no início da doença haver episódios febris. Durante essa fase os sinais clínicos incluem febre aguda, inapetência, secreção nasal serosa e tosse, que pode se tornar mucopurulenta (OLIVEIRA, 2018). Em casos de infecção por EHV-1 pode haver vasculite multissistêmica, edema pulmonar e hemorragia (DEL PIERO et al., 2000; PATEL; HELDENS, 2005; GULATI et al. 2019). Lesões microscópicas características, quando presentes, incluem bronquiolite e pneumonia intersticial. Em alguns casos se observam corpúsculos de inclusão intranucleares em células do endotélio pulmonar (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017)

O aborto pode ser iniciado por infecção exógena ou reativação do vírus latente e quadros abortivos também podem acontecer após um surto respiratório (LARA et al., 2003). A infecção por EHV-1 pode causar aborto no final da gestação (a partir de 7 meses de gestação), natimortos e potros fracos. Sua replicação ocorre nas células endoteliais e induz trombose e isquemia nos cotilédones da placenta, causando aborto (SMITH et al., 1992). Alguns fetos podem nascer, porém geralmente morrem logo após o nascimento, devido a complicações respiratórias.

Em fetos abortados, as lesões macroscópicas consistem em icterícia, edema cavitário, distensão dos pulmões, esplenomegalia com folículos linfóides proeminentes e numerosos focos pálidos de necrose que são evidentes na cápsula ao corte, nas superfícies do fígado e dos rins. Microscopicamente as lesões consistem em bronquiolite e pneumonia intersticial, necrose grave da polpa branca esplênica, necrose focal e congestão grave de sinusóides hepáticos, e das glândulas adrenais. Adicionalmente, pode haver congestão e formação de manguitos perivasculares nos capilares do SNC e inclusões virais intranucleares eosinofílicas em astrocitos, hepatócitos, pneumócitos e nos túbulos renais. (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; SILVA et al., 2018; GULATI et al. 2019).

Mieloencefalopatia por herpesvírus equino (EHM) é uma doença neurológica associada ao EHV-1 que pode afetar equídeos de todas as idades, incluindo potros não desmamados. Os sinais clínicos de EHM geralmente ocorrem de 6 a 10 dias após o início da viremia (GULATI et al. 2019). Os sinais clínicos incluem febre, ataxia, incoordenação, paresia/paralisia dos

membros, principalmente os posteriores, disfunção da bexiga, incontinência urinária, déficit sensorial na área perineal, paralisia da cauda, decúbito permanente e morte. Podem ocorrer, adicionalmente, edema escrotal ou prepucial em cavalos machos e edema de membros (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017).

As lesões microscópicas em animais afetados consistem em congestão de vasos encefálicos e vasculite com trombose e necrose isquêmica do tecido neural adjacente. Observa-se também uma coloração cinza escura em áreas da substância cinzenta da medula espinhal. As lesões são caracterizadas por vasculite severa com degeneração das paredes dos vasos sanguíneos e acúmulo perivascular de linfócitos e plasmócitos e células mononucleares indiferenciadas, necrose isquêmica do tecido neural adjacente (PIMENTEL et al., 2009; MACLACHLAN & DUBOVI, 2017). As lesões são focais, e por este motivo é necessária uma avaliação completa do encéfalo e medula espinhal, para que as lesões não passem despercebidas. As regiões afetadas, geralmente apresentam áreas de hemorragia discreta e distribuídas aleatoriamente no cérebro e/ou na medula espinhal dos cavalos afetados.

#### **d) Diagnóstico**

Embora não sejam suficientes para a determinação diagnóstica de herpesvírus equinos 1 e 4, em animais afetados, dados clínicos, epidemiológicos, características de lesões durante necropsias e achados histológicos oferecem dados importantes para a suspeita etiológica. Para a confirmação da suspeita, devem ser realizados exames laboratoriais diretos (evidenciação de estruturas virais ou constatação do material genético viral em amostras) e indiretos (presença de anticorpos reativos a antígenos virais, sugestivo de contato prévio).

O isolamento viral constitui o método padrão ouro para a confirmação de suspeitas de infecção em ambos herpesvírus (EHV-1 e EHV-4). Análises por meio de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) também constituem um importante método de diagnóstico direto para animais infectados. Amostras que podem ser utilizadas incluem swabs obtidos da nasofaringe que devem ser coletados na fase febril da infecção respiratória (1–5 dias após a infecção). O vírus também pode ser detectado na amostra de sangue (em EDTA) e no líquido cefalorraquidiano no aparecimento de sinais neurológicos. As amostras do cérebro e da medula espinhal coletadas durante a necropsia são úteis para a confirmação do DNA viral por PCR (GULATI et al., 2019). A placenta, pulmões, fígado, baço e timo de fetos abortados devem ser coletados assepticamente para detecção de vírus e também em formalina tamponada a 10% junto com medula espinhal e cérebro de casos suspeitos de EHM para exames histopatológicos e imunohistoquímicos (IHC) (PIMENTEL et al., 2009; SILVA et al., 2018).

O diagnóstico indireto com anticorpos contra estes herpesvírus, utiliza os testes imunológicos de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), a soroneutralização (SN) e a fixação de complemento (FC). Estudos sorológicos convencionais iniciais, como a soroneutralização e a fixação de complemento não faziam distinção entre estes subtipos, pois não havia testes com anticorpos específicos para cada tipo. Por este motivo, os resultados obtidos eram imprecisos. A partir de 1995, foi elaborado um teste de ELISA capaz de distinguir hospedeiros infectados por EHV-1 e/ou EHV-4 (CRABB et al., 1995). Embora já exista um método que permita a distinção por meio de anticorpos de animais infectados pelos EHV-1 e EHV-4, a maioria dos estudos realizados no Brasil, emprega a técnica de soroneutralização que não diferencia entre animais infectados por EHV-1 ou EHV-4, a técnica de ELISA que permite a diferenciação entre animais infectados por esses herpesvírus, foi empregada em apenas dois estudos, de TORELLI (2011) e PILZ (2018), demonstrando que a técnica de ELISA não é rotineiramente utilizada por laboratórios nacionais. Outro fator importante na interpretação de dados sorológicos é o histórico quanto a utilização de vacinação contra EHV-1 e/ou EHV-4 que pode interferir no resultado dos testes (GULATI et al., 2019).

Muitas vezes é necessária a realização de mais de um exame complementar para a confirmação do diagnóstico, visto que alguns dos testes realizados simultaneamente podem apresentar resultados negativos em detrimento de outros (SILVA et al., 2018).

#### **e) Prevenção e controle**

A principal forma de se impedir a disseminação desses agentes virais em uma tropa consiste em medidas de higiene e manejo, tais como remoção de restos placentários e resquícios de aborto das instalações e isolando-se animais com afecções respiratórias dos demais integrantes da tropa, além de evitar situações que exerçam estresse e conseqüentemente imunossupressão como superlotação e desnutrição que podem reativar de infecções herpéticas latentes (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017). Há a necessidade da realização de quarentena prévia à introdução de animais recém adquiridos para se avaliar o estado de saúde, pois estes, caso sejam portadores podem disseminar os agentes virais nos plantéis (OLIVEIRA, 2018)

As vacinas EHV-1 disponíveis são licenciadas para a prevenção de doenças respiratórias e/ou aborto por EHV. Além disso, existem pelo menos 12 vacinas vivas inativadas e modificadas multivalentes para EHV-1 e EHV-4 disponíveis no mercado, que oferecem proteção apenas contra doenças respiratórias por EHV-1 e EHV-4. O EHV-1 é considerado geneticamente e antigenicamente estável, e nenhum impacto da variação da cepa na eficiência da vacina foi demonstrado (GULATI et al, 2019). Para prevenir infecções respiratórias, a

vacinação de potros é feita por volta dos 3–5 meses de idade, com uma segunda imunização dentro de 4 a 6 semanas, seguida de vacinação de reforço a cada 3 ou 6 meses, dependendo do tipo de vacina. Para evitar o aborto induzido por EHV-1, é recomendado vacinar éguas grávidas no quinto, sétimo e nono meses de gravidez (TORELLI, 2011; GULATI et al., 2019).

A maior parte vacinas comercializadas no Brasil é polivalente, e são associadas a antígenos do tétano, EHV-4, vírus da influenza equina (EIV) e vírus das encefalites equinas venezuelana, do leste e oeste (TORELLI, 2011; OLIVEIRA, 2018). Porém, a vacinação não é totalmente protetora, sendo limitada em intensidade e proteção. Por este motivo, surtos da doença podem ser observados mesmo em rebanhos vacinados (SILVA et al., 2018).

### **2.3.2 Alfaherpesvírus equino 3 (EHV-3) e Alfaherpesvírus equino 6 (EHV-6)**

Estes vírus pertencem a ordem *Herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Varicellovirus* (DAVISON et al., 2009; BARRANDEGUY & THIRY, 2012). O EHV-3 tem tropismo por células epiteliais do sistema reprodutor de equinos. Em muares e asininos, além das lesões genitais, pode ocorrer estomatite severa (MARTELLA et al., 2020). O EHV-6, vírus análogo ao Herpesvírus asinino 1 (AHV-1), causa alterações semelhantes em asininos e muares, porém equinos não são afetados (CÂMARA et al., 2020). Ambos têm por características serem causadores de exantema coital (ECE) em hospedeiros infectados. A doença já era conhecida desde o início do século XX, porém o EHV-3 só foi atribuído como responsável por esta enfermidade em 1968 (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017).

Estudos posteriores demonstraram que há a ocorrência do agente nas Américas (BOUCHEY et al., 1987; BARRANDEGUY et al., 2010b; FERREIRA et al. 2010; BARBA et al., 2015), Ásia (UPPAL et al., 1989; SEKI et al., 2004; YUROV & ALEKSEENKOVA, 2018), Europa (PETZOLDT, 1970; GIBBS et al., 1972), África (DUBALE, 2017) e Oceania (PASCOE et al., 1972). No Brasil existe apenas dois estudos relacionados a detecção de material genético de EHV-3, em um reprodutor equino com lesões características de exantema coital equino no estado de Minas Gerais, Sudeste do Brasil (FERREIRA et al., 2010) e no estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil (SILVA-FILHO et al., dados não publicados) e até o momento EHV-6 não foi diagnosticado em asininos ou muares no país, nem há estudos de que ofereçam evidências indiretas de sua ocorrência.

### **a) Transmissão e patogenia**

A transmissão do EHV-3 e do EHV-6 ocorre principalmente através do contato sexual ou cutâneo (SEKI et al., 2004), porém sua disseminação nos plantéis pode ocorrer de forma iatrogênica, por transferência de embriões ou inseminação artificial (BARRANDEGUY et al., 2010a; BARRANDEGUY et al., 2010b; BARRANDEGUY & THIRY, 2012). A doença clínica surge após um período de incubação de 5 a 9 dias (FERREIRA et al., 2010; BARRANDEGUY & THIRY, 2012), após isso ocorre a replicação viral, que é limitada ao epitélio estratificado da epiderme da pele ou nas margens mucocutâneas. A destruição do epitélio causada pela infecção pelo vírus lítico desencadeia uma resposta inflamatória vigorosa e localizada que dá origem à formação das lesões cutâneas características da ECE ((MACLACHLAN & DUBOVI, 2017).

### **b) Sinais clínicos e lesões**

Os sinais clínicos geralmente são mais graves em garanhões do que em éguas e cursam com apatia, febre, inapetência e edema de prepúcio e escroto, exsudato purulento drenado do prepúcio, diminuição da libido e recusa à realização da monta. Posteriormente há o surgimento de pequenas pápulas elevadas e avermelhadas, que muitas vezes passam despercebidas e evoluem para vesículas, pústulas e úlceras na mucosa vaginal e vulvar nas fêmeas e pênis, prepúcio e região perineal nos machos (GIBBS et al., 1972; SEKI et al., 2004; FERREIRA et al., 2010; BARRANDEGUY et al., 2012; BARBA et al. 2015).

Embora lesões tissulares sejam mais frequentes no epitélio perigenital, alterações oculares e oronasais também podem estar presentes (BARRANDEGUY et al., 2010b; FERREIRA et al., 2010; BARBA et al., 2015). Recentemente um surto associado ao EHV-3 foi descrito em 34 asininos na Itália. Estes, apresentavam lesões ulcerativas na mucosa oral, língua e junções muco-cutâneas (potros) e úberes e vulva (éguas) (MARTELLA et al., 2020), demonstrando que as lesões ocorrem no tegumento em áreas que tiveram contato com o agente viral.

Microscopicamente tem se relatado a presença de áreas de ulceração focalmente extensas na mucosa do pênis com infiltrado inflamatório misto, composto por neutrófilos, linfócitos, macrófagos e raros eosinófilos associado a necrose multifocal moderada com acúmulo de fibrina, acantose e presença de áreas difusas de acantólise (FERREIRA et al., 2010; BARRANDEGUY & THIRY, 2012). Inclusões virais intranucleares em células epiteliais também são observadas (BARBA et al., 2015).

Apesar de os danos teciduais serem autolimitantes e estarem na maioria dos casos restritos a mucosa vaginal, vestibular e anal bem como o pênis e prepúcio dos garanhões (BARRANDEGUY et al., 2010a; Ferreira et al. 2010), a completa cicatrização em casos não complicados pode levar até 14 dias, podendo estender-se por mais tempo com infecção bacteriana secundária, causando um significativo prejuízo econômico aos produtores (ALLEN & UMPHENOUR, 2004; BARRANDEGUY et al., 2010a).

### **c) Diagnóstico**

Sinais clínicos e características das lesões podem ser utilizados para o diagnóstico (BARRANDEGUY & THIRY, 2012), porém a confirmação deve ser realizada com exames complementares. Não há laboratórios comerciais que forneçam testes sorológicos de rotina para EHV-3. Apesar disso, as amostras de soro são úteis para demonstração de soroconversão e títulos de anticorpos (SEKI et al., 2004; KIRISAWA et al., 2017). Exames sorológicos são interessantes para o EHV-3 por não apresentarem reatividade sorológica cruzada com outros equinos herpesvírus por ensaios de neutralização, como ocorre entre os EHV-1 e EHV-4 (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017).

A técnica de PCR é útil para a detecção de EHV-3 em tecidos afetados (BOUCHEY et al., 1987; SEKI et al., 2004; VISSANI et al., 2018; VISSANI et al., 2020). As amostras utilizadas para confirmação laboratorial de EHV-3 podem ser obtidas das bordas de lesões ativas frescas por biópsia ou por raspagem ou esfregaço (FERREIRA et al., 2010). Amostras de sangue podem ser úteis durante doenças agudas até 3-4 semanas depois (FERREIRA et al., 2010). Além disso, as amostras para isolamento de vírus podem ser submetidas a um laboratório apto em 1–3 mL de meio de transporte viral sob refrigeração (BARRANDEGUY et al., 2012; KIRISAWA et al., 2017).

### **d) Prevenção e controle**

Não há vacinas ou terapias antivirais disponíveis para ECE. A prevenção consiste no exame clínico de éguas e garanhões antes do acasalamento e retirando-os das atividades de reprodução temporariamente quando as lesões estão presentes. Além disso, a quarentena deve ser uma prática regular quando novos animais são introduzidos no rebanho. No entanto, é importante enfatizar que esta abordagem não é suficiente para identificar cavalos subclínicamente afetados ou com infecções latentes. (BARRANDEGUY et al., 2008; VISSANI et al., 2020).



### **2.3.3 Alfaherpesvírus equino 8 (EHV-8)**

Há poucos dados relacionados aos efeitos do EHV-8, conhecido também como herpesvírus asinino 3 (AHV-3) na população equídea, não havendo nenhum dado publicado no Brasil. Esse vírus está associado ao desenvolvimento de rinite em asininos afetados, o que foi demonstrado experimentalmente submetendo-se asininos suspeitos de infecção à condições de supressão imunológica provocada pela administração de corticoides (BROWNING et al., 1988). Recentemente, atribuiu-se ao AHV-3 a ocorrência de abortos em asininos na Irlanda. Nesses casos, inicialmente suspeitou-se que o agente etiológico fosse o EHV-1. Porém, posteriormente confirmou-se AHV-3 por meio de isolamento viral e análise de PCR (GARVEY et al., 2018).

## **2.4 Gamaherpesviroses em equídeos**

### **2.4.1 Gamaherpesvírus equino 2 (EHV-2) e Gamaherpesvirus equino 5 (EHV-5)**

O EHV-2 e EHV-5 pertencem a ordem *Herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *gammaherpesvirinae* e gênero *Percavirus* (DAVISON et al., 2009; MACLACHLAN & DUBOVI, 2017). Esses vírus apresentam distribuição global, afetando equinos (NORDENGRAHN et al., 2002; AGNOL et al., 2019). Potros jovens geralmente se infectam pelo EHV-2, após isso há uma depressão imunológica que favorece a infecção pelo EHV-5 (GILKERSON et al., 2015; PILZ, 2018). Nestas infecções podem haver ocasionais reativações ao longo da vida, frequentemente subclínicas, pela característica de latência de infecções por herpesvírus de uma forma geral, atuando como disseminadores assintomáticos (HARTLEY et al., 2013; AGNOL et al., 2019).

Um sítio de latência bastante reconhecido do EHV-2 são os linfócitos B, embora possam, ser encontrado em macrófagos, sistema nervoso central e periférico e outros tecidos linfoides (LÉON et al., 2007; FORTIER et al., 2010; AGNOL et al., 2019). O EHV-5 infecta o epitélio pulmonar (WILLIAMS et al., 2013; AGNOL et al., 2019) e promove uma doença emergente denominada de fibrose pulmonar multinodular em equinos (Síndrome da EMPF) (PANZIERA et al., 2014; AGNOL et al., 2019). Tanto o EHV-2 quanto o EHV-5, podem afetar mueres e asininos. Estes podem apresentar sinais clínicos ou a doença pode se manter de forma subclínica, a depender da resposta imune específica desenvolvida contra a cepa infectante (KLEIBOEKER et al., 2002; VENGUST et al., 2008; ESTIMA-SILVA et al., 2017). Há também habilidade desse tipo viral em infectar linfócitos e reduzir a capacidade imune do

hospedeiro, aumentando a probabilidade de infecções virais ou bacterianas oportunistas (DUNOWSKA, 2000).

No Brasil os EHV-2 e EHV-5 foram detectados em animais assintomáticos (AGNOL et al., 2016; AGNOL et al., 2019; FINGER et al., 2020), sendo pela primeira vez o EHV-5 diagnosticado em uma égua de 7 anos de idade da região Sudeste, que morreu após apresentar doença respiratória crônica (PANZIERA et al., 2014). Posteriormente foi diagnosticado em um equino de 15 anos da região Sul do Brasil, que apresentava sinais clínicos semelhantes ao caso anterior (ESTIMA-SILVA et al., 2017). Estes dados demonstram que apesar de haver poucos diagnósticos de enfermidades relacionadas ao EHV-5 e nenhum sobre o EHV-2, estes podem estar disseminados nas populações de equinos nas regiões Sul e Sudeste do Brasil.

#### **a) Transmissão e patogenia**

Assim como outros herpesvírus que provocam doenças respiratórias, ambos possuem como principal via de transmissão a respiratória e têm como o primeiro sítio de replicação, o trato respiratório superior dos equídeos durante a primeira infecção e outras reinfecções (PILZ, 2018), além do contato direto entre mucosas ou contato com fômites contaminados (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; GULATI et al., 2019).

A patogenia dos agentes não está bem estabelecida, porém, acredita-se que a fase lítica de replicação viral está associada ao trato respiratório de hospedeiros, visto que é o local onde as principais lesões são evidenciadas (FINGER et al., 2020).

#### **b) Sinais clínicos e lesões**

Animais afetados pelos gammaherpesvírus equinos 2 ou 5 apresentam como sinais clínicos inapetência, tosse, quadros de imunossupressão e infecções do trato respiratório superior (GULATI et al., 2019). Em animais detectados com EHV-2 foram encontradas como lesões macroscópicas ceratoconjuntivites, úlceras gastroesofágicas, linfonodos submandibulares e parotídeos tumefeitos (FORTIER et al., 2010; MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; SHARKEY et al., 2020) além de descargas nasais, pneumonia e linfadenopatia (FORTIER et al., 2010; AGNOL et al., 2019). Abortos envolvendo EHV-2 e EHV-5, raramente ocorrem e supõe-se que não sejam uma importante causa de abortos em equinos (LÉON et al., 2007).

O EHV-5 pode provocar febre, perda de peso e taquicardia (PANZIERA et al., 2014). É o agente etiológico responsável pela grave síndrome de Fibrose Pulmonar Multinodular em

Equinos (EMPF), que apresentam quadros de pneumonia intersticial severa e fibrose pulmonar (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017; GULATI et al., 2019). O pulmão pode se apresentar aumentado de tamanho com impressão das costelas, com múltiplos nódulos fibróticos coalescentes, de cor pálida e moderadamente firmes, medindo entre 1-5cm de diâmetro, possuindo seus limites discretamente evidentes e distribuídos no parênquima (PANZIERA et al., 2014; ESTIMA-SILVA et al., 2017; BIANCHI et al., 2018). De maneira menos comum, essa fibrose pode aparecer como múltiplos nódulos separados por áreas pulmonares não afetadas, que podem chegar a medir 10 cm de diâmetro e serem confundidas com processos neoplásicos (ESTIMA-SILVA et al., 2017).

As lesões histológicas estão mais ligadas ao parênquima alveolar com nódulos apresentando tecido colagenoso maduro bem organizados, com infiltração mista de células inflamatórias, sobretudo linfócitos e, em menor grau, eosinófilos, macrófagos e neutrófilos (PANZIERA et al., 2014; ESTIMA-SILVA et al., 2017). Têm-se uma arquitetura alveolar preservada e delimitada por células epiteliais cubóides. Nos espaços alveolares, ocorre infiltrado inflamatório de neutrófilos e macrófagos, com raros grandes macrófagos com abundante citoplasma eosinofílico e inclusão viral intranuclear eosinofílica, além de algumas células gigantes multinucleadas e hiperplasia de pneumócitos tipo II (PANZIERA et al., 2014; ESTIMA-SILVA et al., 2017; BIANCHI et al., 2018).

### **c) Diagnóstico**

As características clínicas dos animais e as lesões macroscópicas e histológicas auxiliam no diagnóstico presuntivo da EMPF em equídeos, porém, animais subclínicos podem disseminar os agentes de forma silenciosa (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017).

O teste ouro de detecção do EHV-2 e EHV-5 se baseia em diagnóstico molecular, como qPCR, sendo este teste essencial na detecção precoce e rápida de doenças infecciosas (AGNOL et al., 2019; GULATI et al., 2019; FINGER et al., 2020). O isolamento viral pode ser realizado em células de amostras advindas de secreções nasais, lavados traqueais e sangue, porém, sua eficácia pode ser prejudicada quando os períodos de colheita coincidirem com períodos de baixa eliminação viral, transporte e preservação inadequados das amostras ou presença de outros contaminantes nas amostras (GALOSI et al., 2001; PILZ, 2018).

### **d) Prevenção e controle**

A prevenção e controle de herpesvirose em equídeos está associada a um manejo correto desses animais, como o controle de entrada de animais positivos nas propriedades e a

terapêutica com os animais que apresentem os sinais clínicos mais severos (PILZ, 2018). Essas práticas são extremamente relevantes para reduzir o impacto dessas doenças no rebanho. Protocolos de vacinação para os gammaherpesvírus equino tipo 2 e tipo 5 ainda não foram desenvolvidos.

#### **2.4.2 Herpesvírus asinino 4 (AHV-4) e Herpesvírus asinino 5 (AHV-5)**

Com o avanço das técnicas moleculares se tem evidenciado a presença de agentes outrora desconhecidos como causadores de enfermidades em equídeos. Dentre estes novos herpesvírus, os quais ainda não foram atribuídos ao gênero gammaherpesvírus (CÂMARA et al., 2020), modificações taxonômicas tendem a ser realizadas nos próximos anos para preencher estas lacunas (MACLACHLAN & DUBOVI, 2017). Foram diagnosticados em asininos que vieram a óbito os herpesvírus asininos 4 e 5. Nesses casos, os animais apresentavam severas lesões pulmonares, que consistiam em numerosos nódulos amarelos na superfície, multifocais a coalescentes, de 1–3 mm de diâmetro, espalhados por todo o parênquima.

Histologicamente bronquiolite linfocítica e supurativa com infiltrados de células inflamatórias intersticiais peribronquiolares nos pulmões que continham acúmulos difusos e marcados de histiócitos e neutrófilos com áreas de fibrose intersticial e bronquiolite necrosante; os espaços alveolares foram obliterados por acúmulos de histiócitos, neutrófilos, edema e fibrina (KLEIBOEKER et al., 2002). Embora este estudo demonstre uma grave síndrome ocasionada por estes agentes virais, mais estudos precisam ser realizados para uma melhor caracterização da doença, bem como seu impacto sobre a população equídea.

### 3. REFERÊNCIAS

- AGNOL, A.M.D.; BEUTTEMMULLER, E.A.; PILZ, D.; OLIVEIRA, M.V.; SUPHORONSKI, S.A.; POSSATTI, F.; CURTI, P.A.C.; HEADLEY, S.A.; ALFIERI, A.F. & ALFIERI, A.A. Detecção de gamaherpesvírus em equinos assintomáticos no Brasil. *Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública*, v. 3, p. 134-137, 2016.
- AGNOL, A.M.D.; BEUTTEMMULLER, E.A.; PILZ, D.; LEME, R.A.; SAPORITI, V.; HEADLEY, S.A.; ALFIERI, A.F. & ALFIERI, A.A. Detection of Equid gammaherpesvirus 2 and 5 DNA in the upper respiratory tract of asymptomatic horses from Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 50, n. 3, p. 875-878, 2019.
- AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; LARA, M.C.C.S.H.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; OKUDA, L.H.; STÉFANO, E.; NASSAR, A.F.C.; SOUZA, G.O.; VASCONCELLOS, S.A.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A. & GENNARI, S.M. Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 45, n. 4, p. 269-276, 2008.
- ALENCAR-ARARIPE, M.G.; MAIA, D.C.B.S.C.; CAMPELO, C.C.; JÚNIOR, A.S.; COSTA E SILVA, M.; DIAS, A.V.; MEDEIROS, C.M.O. & NUNES-PINHEIRO, D.C.S. Evidências sorológicas de EHV-1/EHV-4 em cavalos de vaquejada no estado do Ceará, Brasil. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 8, n. 2, p. 203-217, 2014.
- ALLEN, G. & UMPHENOUR, N. Equine coital exanthema, p. 860–867. In: COETZER, J. & TUSTIN, R. *Infectious Diseases of Livestock*. Oxford Press: Cape Town, South Africa, 2004.
- ALLEN, G.P. Risk factors for development of neurologic disease after experimental exposure to equine herpesvirus-1 in horses. *American Journal of Veterinary Research*, v. 69, n. 12, p. 1595-1600, 2008.
- BARBA, M.; STEWART, A.J.; SHRADER, S.M.; KOEHLER, J.W.; JOHNSON, A.K. & CALDWELL, F.J. Keratitis and periocular lesions associated with equine herpesvirus-3 in a 3-month-old filly. *Equine Veterinary Education*, v. 27, n. 12, p. 618-622, 2015.
- BARRANDEGUY, M. & THIRY, E. Equine coital exanthema and its potential economic implications for the equine industry. *The Veterinary Journal*, v. 191, n. 1, p. 35-40, 2012.

- BARRANDEGUY, M.; PERKINS, J.; MAC DONOUGH, J.; VISSANI, A.; OLGUIN, C. & THIRY, E. Occurrence of equine coital exanthema in mares from an embryo transfer center. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 30, n. 3, p. 145-149, 2010a.
- BARRANDEGUY, M.; ULLOA, N.; BOK, K. & FERNÁNDEZ, F. Outbreak of rhinitis caused by equine herpesvirus type 3. *Veterinary Record*, v. 166, p. 178-179, 2010b.
- BARRANDEGUY, M.; VISSANI, A.; OLGUIN, C.; BARBARA, G.; VALENZUELA, H.; BECERRA, L.; TORDOYA, M.; MIÑO, S. & THIRY, E. Experimental infection with equid herpesvirus 3 in seronegative and seropositive mares. *Veterinary Microbiology*, v. 160, n. 3-4, p. 319-326, 2012.
- BARRANDEGUY, M.; VISSANI, A.; OLGUIN, C.; BECERRA, L.; MIÑO, S.; PEREDA, A.; ORIOL, J. & THIRY, E. Experimental reactivation of equine herpesvirus-3 following corticosteroid treatment. *Equine Veterinary Education*, v. 40, n. 6, p. 593-595, 2008.
- BIANCHI, M.V.; MELLO, L.S.; LORENZO, C.D.; LOPES, B.C.; SNEL, G.G.; DRIEMEIER, D. & PAVARINI, S.P. Lung lesions of slaughtered horses in southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 38, n. 11, p. 2056-2064, 2018.
- BOUCHEY, D.; EVERMANN, J. & JACOB, R.J. Molecular pathogenesis of equine coital exanthema (ECE): temperature sensitivity (TS) and restriction endonuclease (RE) fragment profiles of several field isolates. *Archives of Virology*, v. 92, n. 3-4, p. 293-299, 1987.
- BROWNING, G.F.; FICORILLI, N. & STUDDERT, M.J. Asinine herpesvirus genomes: comparison with those of the equine herpesviruses. *Archives of Virology*, v. 101, p. 183-190, 1988.
- CÂMARA, R.J.F.; BUENO, B.L.; RESENDE, C.F.; BALASURIYA, U.B.R.; SAKAMOTO, S.M. & REIS, J.K.P. Viral diseases that affect donkeys and mules. *Animals*, v. 10, n. 12, p. 2203, 2020.
- CARVALHO, R.; PASSOS, L.M.F.; OLIVEIRA, A.M.; HENRY, M. & MARTINS, A.S. Detection of equine herpesvirus 1 DNA in a single embryo and in horse semen by polymerase chain reaction. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 52, n. 4, p. 302-306, 2000.
- COSTA, E.A.; ROSA, R.; OLIVEIRA, T.S.; FURTINI, R.; FONSECA JÚNIOR, A.A.; PAIXÃO, T.A. & SANTOS, R.L. Diagnóstico etiológico de enfermidades do sistema nervoso

central de equinos no estado de Minas Gerais, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 67, n. 2, p. 391-399, 2015.

CRABB, B.S.; MACPHERSON, C.M.; REUBEL, G.H.; BROWNING, G.F.; STUDDERT, M.J. & DRUMMER, H.E. A type-specific serological test to distinguish antibodies to equine herpesviruses 4 and 1. *Archives of Virology*, v. 140, n. 2, p. 245-258, 1995.

CUNHA, E.M.S.; LARA, M.C.C.S.H.; VILLALOBOS, E.M.C.; DE CASTRO NASSAR, A.F.; DEL FAVA, C.; SCANNAPIECO, E.M.; CUNHA, M.S. & MORI, E. Causes of encephalitis and encephalopathy in Brazilian equids. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 38, p. 8-13, 2016.

DAVISON, A.J.; EBERLE, R.; EHLERS, B.; HAYMARD, G.S.; McGEOCH, D.J.; MINSON, A.C.; PELLETT, P.E.; ROIZMAN, B.; STUDDERT, M.J. & THIRY, E. The Order Herpesvirales. *Archives of Virology*, v. 154, p. 171–177, 2009.

DEL PIERO, F.; WILKINS, P.A.; TIMONEY, P.J.; KADUSHIN, J.; VOGELBACKER, H.; LEE, J.W.; BERKOWITZ, S.J. & LA PERLE, K.M.D. Fatal nonneurological EHV-1 infection in a yearling filly. *Veterinary Pathology*, v. 37, n. 6, p. 672-676, 2000.

DIAZ, K.A.F.; HÜBNER, S.D.O.; VARGAS, G.; FISCHER, G.; LILENBAUM, W. & LIMA, M.D. Ocorrência de anticorpos contra o herpesvírus equino e vírus da arterite equina em rebanhos equinos do estado do Rio de Janeiro. *Ciência Animal Brasileira*, v. 16, n. 3, p. 410-418, 2015.

DIEL, D.G.; ALMEIDA, S.R.D.; WEIBLEN, R.; FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D.; KREUTZ, L.C.; GROFF, F.H.S. & FLORES, E.F. 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*, v. 36, n. 5, p. 1467-1473, 2006.

DIMOCK, W.W. & EDWARDS, P.R. The differential diagnosis of equine abortion with special reference to hitherto undescribed form of epizootic abortion of mares. *The Cornell Veterinarian*, v. 26, n. 3, p. 231-239, 1936.

DUBALE, H.N. Epidemiology of equine herpesviruses (EHVs) in Ethiopian equids and invasion characteristics of EHV-1 and EHV-3 in respiratory and genital mucosae. Tese de Doutorado, Ghent University, Gent, Bélgica, 2017. 159p.

DUNOWSKA, M.; HOLLOWAY, S.A.; WILKS, C.R. & MEERS, J. Genomic variability of equine herpesvirus-5. *Archives of Virology*, v. 145, n. 7, p. 1359–1371, 2000.

ESTIMA-SILVA, P.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SANTOS, B.L.; COELHO, A.C.B.; AMARAL, L.A.; LIM, A.; BOLIN, S.R. & SCHILD, A.L. Equine multinodular pulmonary fibrosis in southern Brazil: pathology and differential diagnosis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 11, p. 1247-1252, 2017.

ESTIMA-SILVA, P.; RIET-CORREA, F.; COELHO, A.C.B.; ECHENIQUE, J.V.Z.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; LIMA, M.; DIEL, D.G. & SCHILD, A.L. Identification of equine herpesvirus type 1 as cause of abortion in mares in Southern Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 71, n. 4, p. 1421-1424, 2019.

FERREIRA, C.; COSTA, E.A.; FRANÇA, S.A.; DE MELO, U.P.; DRUMOND, B.P.; BOMFIM, M.R.Q.; COELHO, F.M.; RESENDE, M.; PALHARES, M.S. & SANTOS, R.L. Equine coital exanthema in a stallion. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 62, n. 6, p. 1517-1520, 2010.

FERREIRA, H.I.P.; CALABUIG, C.; BORGES, P.A.C.; OLIVEIRA, I.V.P.M.; FREIRE, D.A.C.; VILLALOBOS, E.M.C.; LARA, M.C.C.S.H.; PITUCO, E.M.; ROMALDINI, A.H.C.N.; CUNHA, E.M.S.; DE STEFANO, E. & DE PAULA ANTUNES, J.M.A. Soroepidemiologia de agentes virais em equinos de vaquejada. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, v. 40, n. 1, p. e054218-e054218, 2018.

FINGER, M.A.; BIAVA, J.S.; DORNBUSCH, P.T.; PEROTTA, J.H.; ULLMANN, L.S.; SILVA-SERPA, P.B.; SANTOS, A.P.; BIONDO, A.W.; LEUTENEGGER, C.M. & BARROS FILHO, I.R. Molecular Detection of Equid Herpesvirus Type 2 (Ehv-2) and Type 5 (Ehv-5) in Bronchoalveolar Lavage Fluid From Asymptomatic Thoroughbred Horses in Southern Brazil. 2020.

FORTIER, G.; VAN ERCK, E.; PRONOST, S.; LEKEUX, P. & THIRY, E. Equine gammaherpesviruses: pathogenesis, epidemiology and diagnosis. *The Veterinary Journal*, v. 186, n. 2, p. 148–156, 2010.

GALOSI, C.M.; VILA ROZA, M.V.; OLIVA, G.A.; PECORARO, M.R.; ECHEVERRIA, M.G.; CORVAS, S. & ETCHEVERRIGARAY, M.E. A polymerase chain reaction for detection of equine herpesvirus 1 in routine diagnostic submission of tissues from aborted fetuses. *Journal of Veterinary Medicine B*, v. 48, n. 5, p. 341-346, 2001.

GARVEY, M.; SUÁREZ, N.M.; KERR, K.; HECTOR, R.; MOLONEY-QUINN, L.; ARKINS, S.; DAVISON, A.J. & CULLINANE, A. Equid herpesvirus 8: Complete genome sequence and association with abortion in mares. *PloS One*, v. 13, n. 2, p. e0192301, 2018.



GIBBS, E.P.J.; ROBERTS, M.C. & MORRIS, J.M. Equine coital exanthema in the United Kingdom. *Equine Veterinary Journal*, v. 4, n. 2, p. 74-80, 1972.

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

GULATI, B.R.; VIRMANI, N. & TRIPATHI, B.N. Equine Herpesviruses, p. 51-70. In: MALIK, Y.S.; SINGH, R.K. & YADAV, M.P. *Recent Advances in Animal Virology*. Springer: Singapore, 2019.

HARTLEY, C.A.; DYNON, K.J.; MEKURIA, Z.H.; EL-HAGE, C.M.; HOLLOWAY, S.A. & GILKERSON, J.R. Equine gammaherpesviruses: Perfect parasites? *Veterinary Microbiology*, v. 167, n. 1-2, p. 86-92, 2013.

HEINEMANN, M.B.; CORTEZ, A.; SOUZA, M.D.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. Soroprevalência da anemia infecciosa equina, da arterite viral dos equinos e do aborto viral equino no município de Uruará, PA, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 39, n. 1, p. 50-53, 2002.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2017. Indicadores IBGE: Estatística da Produção Pecuária. Acesso em: 12 de fevereiro de 2021. Disponível em: [https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo\\_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=0&tema=75642](https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=0&tema=75642).

JONES, C. Herpes simplex vírus type 1 and bovine herpesvirus 1 latency. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 16, n. 1, p. 79-95, 2003.

KIRISAWA, R.; TOISHI, Y.; AKAMATSU, A.; SOEJIMA, K.; MIYASHITA, T. & TSUNODA, N. Isolation of equine herpesvirus 3 (EHV-3) from equine coital exanthema of two stallions and sero-epidemiology of EHV-3 infection in Japan. *Journal of Veterinary Science*, v. 16, p. 0518, 2017.

KLEIBOEKER, S.B.; SCHOMMER, S.K.; JOHNSON, P.J.; EHLERS, B.; TURNQUIST, S.E.; BOUCHER, M. & KREEGER, J.M. Association of two newly recognized herpesviruses with interstitial pneumonia in donkeys (*Equus asinus*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 14, n. 4, p. 273-280, 2002.

LARA, M.C.C.S., 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.; LEITE, R.C. & MORI, E. Inquérito sorológico da infecção por herpesvírus equino no Estado de Minas Gerais. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 47, n. 5, p. 352-356, 2010.

LARA, M.C.C.S.; FURMAN, K.E.; BARROS FILHO, I.R.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; DECONTO, I.; BONACIM, J.; UTIME, R.A. & BIONDO, A.W. Detecção de anticorpos contra o vírus da arterite eqüina (EVAV) e herpes vírus eqüino tipo 1 (EHV-1) em cavalos de carroceiros de Curitiba e Região Metropolitana, Paraná, Brazil. *Archives of Veterinary Science*, v. 11, n. 3, p. 11-14, 2006.

LARA, M.C.C.S.H.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; OLIVEIRA, J.V.; NASSAR, A.F.C.; SILVA, L.M.P.; OKUDA, L.; NOGUEIRA, A.H.C.; CUNHA, M.S.; MARQUES, E.C. & MORI, E. Occurrence of viral diseases in donkeys (*Equus asinus*) in São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 54, n. 2, p. 154-158, 2017.

LÉON, A.; FORTIER, G.; FORTIER, C.; FREYMUTH, F.; TAPPREST, J.; LECLERCQ, R. & PRONOST, S. Detection of equine herpesviruses in aborted fetuses by consensus PCR. *Veterinary Microbiology*, v. 126, n. 1-3, p. 20-29, 2007.

MACLACHLAN, N.J. & DUBOVI, E.J. *Fenner's Veterinary Virology*. 5th ed. Cambridge, United States, 2017. 591p.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo. Assessoria de Comunicação e Eventos, Brasília. 56p.

MARTELLA, V.; LANAVE, G.; CAMERO, M.; LAROCCA, V.; LORUSSO, E.; CATELLA, C.; CAPOZZA, P.; TEMPESTA, M. & BUONAVOGLIA, C. Identification of a novel  $\alpha$ -herpesvirus associated with ulcerative stomatitis in donkeys. *Emerging Infectious Diseases*, v. 26, n. 12, p. 3044-3047, 2020.

MORI, E.; BORGES, A.S.; DELFIOL, D.J.Z.; OLIVEIRA FILHO, J.P.D.; GONCALVES, R.C.; CAGNINI, D.Q.; LARA, M.C.C.S.H.; CUNHA, E.M.S.; VILLALOBOS, E.M.C.; NASSAR, A.F.C.; CASTRO, A.M.M.G.; BRANDAO, P.E. & RICHTZENHAIN, L.J. First detection of the equine herpesvirus 1 neuropathogenic variant in Brazil. *Revue Scientifique et Technique-OIE*, v. 30, n. 3, p. 949, 2011.

MUNIZ, T.D.P.T.P.; LARA, M.C.C.H.S.; VILLALOBOS, E.M.C.; JUNIOR, J.W.P.; OLIVEIRA, E.R.G. & CARNEIRO, G.F. Sero-epidemiological and reproductive survey for

alphaherpesvirus infections in horses in the state of Pernambuco, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 41, n. 3, p. 1079-1086, 2020.

NILSON, M.R. & CORRÊA, W.M. Isolamento do vírus do aborto equino no estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 33, n. 1-2, p. 183-194, 1966.

NORDENGRAHN, A.; MERZA, M.; ROS, C.; LINDHOLMC, A.; PALFL, V.; HANNANT, D. & BELAK, S. Prevalence of equine herpesvirus types 2 and 5 in horse populations by using type-specific PCR assays. *Veterinary Research*, v. 33, n. 3, p. 251–259, 2002.

OLIVEIRA, A.L. Atividade in vitro de seis drogas antivirais contra o alfaherpesvírus equino tipo 1. Monografia de Residência, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018. 42p.

PANZIERA, W.; GIARETTA, P.R.; GALIZA, G.J.N.; LIM, A.; BOLIN, S.R.; BORGES, C.H.; FIGHERA, R.A. & BARROS, C.S.L. Equine multinodular pulmonary fibrosis associated with equine Herpesvirus 5 in a horse in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, v. 7, n. 1, p. 17-20, 2014.

PASCOE, R.R.; BAGUST, T.J. & SPRADBROW, P.B. Studies on equine herpesviruses: 4. Infection of horses with a herpesvirus recovered from equine coital exanthema. *Australian Veterinary Journal*, v. 48, n. 3, p. 99-104, 1972.

PATEL, J.R. & HELDENS, J. Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) - Epidemiology, disease and immunoprophylaxis: A brief review. *The Veterinary Journal*, v. 170, p. 14–23, 2005.

PETZOLDT, K. Equine coital exanthema. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, v. 83, p. 93-95, 1970.

PIEREZAN, F. Prevalência das doenças de equinos no Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009. 163p.

PILZ, D. Avaliação da presença de herpesvírus (alpha e gamma) no trato respiratório superior dos equinos e muares. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018. 68p.

PIMENTEL, L.A.; OLIVEIRA, D.M.D.; GALIZA, G.J.; REGO, R.O.D.; DANTAS, A.F.M. & RIET-CORREA, F. Doenças do sistema nervoso central de equídeos no semi-árido. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, n. 7, p. 589-597, 2009.

SANGIONI, L.A.; BOTTON, S.A.; CARGNELUTTI, J.F.; CADORE, G.C.; CEZAR, A.S.; WEIBLEN, R.; LOPES, S.T.A. & VOGEL, F.S.F. Pesquisa de anticorpos anti-Neospora spp. e anti-herpesvírus equino em cavalos de tração no município de Santa Maria, RS, Brasil. *Ciência Rural*, v. 41, n. 2, p. 321-323, 2011.

SEEBER, P.A.; DAYARAM, A.; SICKS, F.; OSTERRIEDER, N.; FRANZ, M. & GREENWOOD, A.D. Noninvasive detection of equid herpesviruses in fecal samples. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 85, n. 3, p. e02234-18, 2019.

SEKI, Y.; SEIMIYA, Y.M.; YAEGASHI, G.; KUMAGAI, S.I.; SENTSU, H.; NISHIMORI, T. & ISHIHARA, R. Occurrence of equine coital exanthema in pastured draft horses and isolation of equine herpesvirus 3 from progenital lesions. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 66, n. 12, p. 1503-1508, 2004.

SHARKEY, L.C.; RADIN, M.J. & SEELIG, D. *Veterinary Cytology*. John Wiley & Sons, 2020.

SHERDING, R.G. Doenças virais variadas, p.177-178. In: BIRCHARD, S.J. & SHERDING, R.G. *Manual Saunders: Clínica de pequenos animais*. 3ª ed. São Paulo: Roca, 2008.

SILVA, A.A.; CUNHA, E.M.S.; LARA, M.C.C.S.H.; VILLALOBOS, E.M.C.; NASSAR, A.F.C.; MORI, E.; ZANUZZI, C.N.; GALOSI, C.M. & DEL FAVA, C. Baixa ocorrência de herpes-vírus equino 1 (HVE-1) como causa de abortamento e mortalidade perinatal no Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 85, n. 1-7, p. e0852017, 2018.

SILVA, A.A.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; LARA, M.C.C.S.H.; NASSAR, A.F.C.; PIATTI, R.M.; CASTRO, V.; PINHEIRO, E.S.; CARVALHO, A.F. & FAVA, C.D. Causes of equine abortion, stillbirth, and perinatal mortality in Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 87, n. 1-9, p. e0092020, 2020.

SMITH, K.C.; WHITWELL, K.E.; BINNS, M.M.; DOLBY, C.A.; HANNANT, D. & MUMFORD, J.A. Abortion of virologically negative fetuses following experimental challenge of pregnant pony mares with equid herpesvirus 1. *Equine Veterinary Journal*, v. 24, n. 4, p. 256-259, 1992.

TELFORD, E.A.; WATSON, M.S.; PERRY, J.; CULLINANE, A.A. & DAVISON, A.J. The DNA sequence of equine herpesvirus-4. *Journal of General Virology*, v. 79, n. 5, p. 1197-1203, 1998.

- TORELLI, C.S. Ocorrência de anticorpos contra o EHV dos tipos 1 e 4 em animais vacinados e não vacinados do Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. 64p.
- UPPAL, P.K.; YADAV, M.P.; SINGH, B.K. & PRASAD, S. Equine Coital Exanthema (EHV-3 Virus) Infection in India. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 36, n. 1-10, p. 786-788, 1989.
- VENGUST, M.; WEN, X. & BIENZLE, D. Herpesvirus-associated neurological disease in a donkey. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 20, n. 6, p. 820-823, 2008.
- VISSANI, M.A.; PERGLIONE, C.O.; ZABAL, O.; ALVAREZ, G.; THIRY, E.; BARRANDEGUY, M. & PARREÑO, V. Topical ganciclovir reduces viral excretion in mares with equine coital exanthema. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 94, p. 103199, 2020.
- VISSANI, M.A.; TORDOYA, M.S.; TSAI, Y.L.; LEE, P.Y.; SHEN, Y.H.; LEE, F.C.; WANG, H.T.T.; PARREÑO, V. & BARRANDEGUY, M. On-site detection of equid alphaherpesvirus 3 in perineal and genital swabs of mares and stallions. *Journal of Virological Methods*, v. 257, p. 29-32, 2018.
- WILLIAMS, K.J.; ROBINSON, N.E.; LIM, A.; BRANDENBERGER, C.; MAES, R.; BEHAN, A. & BOLIN, S.R. Experimental induction of pulmonary fibrosis in horses with the gammaherpesvirus equine herpesvirus 5. *PLoS One*, v. 8, n. 10, p. e77754, 2013.
- YUROV, K.P. & ALEKSEENKOVA, S.V. Coital exanthema of horses: diagnosis and identification of the pathogen. *Russian Veterinary Journal*, v. 6, p. 5-8, 2018.

#### **4. ARTIGO CIENTÍFICO**

##### **4.1 EXANTEMA COITAL EQUINO CAUSADO POR ALFAHERPESVÍRUS EQUINO 3: RELATO DE UM SURTO NO NORDESTE DO BRASIL**

Artigo aceito para publicação na revista Pesquisa Veterinária Brasileira

## Exantema coital equino causado por alphaherpesvírus equino 3: relato de um surto no Nordeste do Brasil

Givaldo B. Silva Filho<sup>1</sup>, Hisadora A.S.C Bom<sup>1</sup>, Silvio M.C. Fonseca<sup>1</sup>, Érica A. Costa<sup>2</sup>, Beatriz S.A.S. Santos<sup>2</sup>, Renato L. Santos<sup>3</sup>, Francisco A.L. Souza<sup>1</sup>, Joaquim Evêncio-Neto<sup>1</sup> and Fábio S. Mendonça<sup>1\*</sup>

**ABSTRACT.**– Silva Filho G.B., Bom H.A.S.C., Fonseca S.M.C., Costa E.A., Santos B.S.A.S., Santos R.L., Souza F.A.L., Evêncio-Neto J. & Mendonça F.S. 2020. **Equine coital exanthema caused by equid alphaherpesvirus type 3: a report of an outbreak in northeastern Brazil.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Diagnóstico Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brazil. E-mail: fabio.mendonca@ufrpe.br

Equine coital exanthema is a venereal infectious disease poorly reported in horses in Brazil and was never described in the northeastern region of the country. This work aims to describe the clinical and pathological aspects of an outbreak of equine coital exanthema caused by equid alphaherpesvirus 3, occurred in a herd of horses at the semiarid region of the State of Rio Grande do Norte. Main clinical signs consisted of anorexia, hiporexia, fibrinous or purulent secretion in the penis mucosa and vagina. Two mares presented mild to minimal lesions that consisted of scars in the mucosa of the vagina and in the perivulvar region. In a stallion the disease consisted of severe, multifocal, umbilicated-exanthematous ulcers of approximately 1cm in diameter on the penis mucosa. Other areas where ulcers and crusts were focally observed included the skin of the scrotum and on the lips and mucocutaneous junctions of the oral cavity. Histologically, the main lesion consisted of multifocal severe ulcerative and fibrinous necrotizing balanoposthitis and mild multifocal necrotizing, lymphocytic dermatitis in the lips and scrotum. The equid alphaherpesvirus 3 DNA was amplified in blood samples and penis mucosa using the PCR technique. This is the first report of molecular diagnosis of equine coital exanthema affecting horses in northeastern Brazil. Further studies should be carried out in order to investigate the epidemiology and the importance of this herpetic disease in the country.

INDEX TERMS: Equine coital exanthema; equid alphaherpesvirus 3; equine; balanopostitis; vaginitis.

**RESUMO.** - [Exantema coital equino causado pelo alphaherpesvírus equino tipo 3: relato de um surto no Nordeste do Brasil.] O exantema coital equino é uma doença infecciosa venérea pouco relatada em equinos no Brasil e nunca descrita na região Nordeste do país. Este trabalho tem como objetivo descrever os aspectos clínicos e patológicos de um surto de exantema coital equino causado pelo alphaherpesvírus equino 3, que ocorreu em um haras na região semiárida do Estado do Rio Grande do Norte. Os principais sinais clínicos consistiram em anorexia, hiporexia, secreção fibrinosa ou purulenta na mucosa do pênis e vagina. Duas éguas apresentavam lesões discretas que consistiam em cicatrizes na mucosa da vagina e na região perivulvar. Em um garanhão, a doença consistia em úlceras umbilicadas-exantematosas severas, multifocais, de aproximadamente 1 cm de diâmetro na mucosa do pênis. Outras áreas onde úlceras e crostas foram observadas focalmente incluíram a pele do escroto, lábios e junções mucocutâneas da cavidade oral. Histologicamente, as principais lesões consistiam em balanopostite multifocal ulcerativa e necrosante fibrinosa grave e dermatite linfocítica necrosante multifocal leve nos lábios e escroto. O DNA do alphaherpesvírus equino 3 foi amplificado em amostras de sangue e mucosa do pênis pela técnica de PCR. Este é o primeiro relato de diagnóstico molecular de exantema coital equino afetando cavalos no nordeste do Brasil. Novos estudos devem ser realizados a fim de investigar a epidemiologia e a importância dessa doença herpética no país.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Exantema coital equino; alphaherpesvírus equideo-3; equino; balanopostite; vaginite.

### INTRODUÇÃO

Alphaherpesvírus equino 3 (EHV-3), o agente etiológico do exantema coital equino (ECE), é um vírus pertencente à ordem *Herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Varicelovirus* que é geneticamente e patogenicamente distinto dos outros herpesvírus equídeos (Barrandeguy & Thiry 2012).

Quatro outros tipos de herpesvírus são causas conhecidas de doenças distintas em cavalos: alfa-herpesvírus equídeo (EHV-1), causando abortos em éguas e também ceratoconjuntivite, encefalomielite e pneumonia neonatal (Léon et al. 2008, Dubale 2017, Estima-Silva et al. 2019, Dunuville et al. 2020); Gammaherpesvírus equino 2 (EHV-2), que foi encontrado em cavalos com ceratoconjuntivite, úlceras

gastroesofágicas e lesões crônicas na garganta (Agius & Studdert 1994, Kershaw et al. 2001, Cicolo et al. 2019, Taulescu et al. 2021); Herpesvírus equino 4 (EHV-4), uma causa importante de rinopneumonite aguda e fatal em potros e ocasionalmente associada a abortos equinos (Crabb & Studdert 1995, Gerst et al. 2003); E gammaherpesvírus equino 5 (EHV-5), a causa de uma síndrome grave e progressiva de fibrose pulmonar em cavalos adultos (Verryken et al. 2010, Williams et al. 2013, Marenzoni et al. 2015, Gulati et al. 2019). Um sexto vírus, o alfaherpesvírus equino 9 (EHV-9) pode causar encefalites subclínicas em cavalos, mas a doença foi descrita apenas em condições experimentais (Soboll 2019).

O vírus do ECE é altamente contagioso e transmitido principalmente sexualmente (Seki et al. 2004), porém as infecções podem ocorrer por contato cutâneo direto ou por secreções contendo vírus em objetos contaminados, inseminação artificial ou transferência de embriões (Barrandeguy et al. 2010a, Barrandeguy et al. 2010b, Barrandeguy & Thiry 2012). Outras rotas de transmissão, como mãos, luvas ou scanner de ultra-som contaminados também podem ocorrer (Barrandeguy et al. 2010b).

EHV-3 geralmente causa uma doença venérea aguda e leve em garanhões e éguas (Barrandeguy et al. 2008, Barrandeguy & Thiry 2012, Gulati et al. 2019). O período de incubação do EHV-3 varia de cinco a nove dias (Ferreira et al. 2010, Barrandeguy & Thiry 2012) assim como outros membros da subfamília *Alphaherpesvirinae*, EHV-3 estabelece latência após uma primeira infecção (Barrandeguy et al. 2008, Gulati et al. 2019). Sob estresse ou após imunossupressão, a reativação da latência geralmente ocorre, levando à eliminação viral e transmissão horizontal (Barrandeguy et al. 2008, Gulati et al. 2019). Inicialmente, as lesões genitais aparecem como pápulas pequenas, elevadas e avermelhadas, que muitas vezes passam despercebidas e progridem para vesículas, pústulas e úlceras na glândula e prepúcio dos garanhões afetados e na mucosa vaginal, vestibular e pele perineal adjacente das éguas afetadas (Gibbs et al. 1972, Seki et al. 2004, Barrandeguy et al. 2010a). Em menor frequência, as lesões podem envolver os tetos, lábios e a mucosa respiratória superior (Ferreira et al. 2010, Barrandeguy et al. 2012, Barba et al. 2015). Adicionalmente, o EHV-3 pode causar infecção respiratória subclínica em cavalos jovens, e foi isolado de lesões vesiculares nasais de potros em contato com éguas infectadas (MacLachlan & Dubovi 2011).

ECE é endêmico na maioria das populações de cavalos em todo o mundo, sendo diagnosticado nas Américas do Norte e do Sul (Bouchey et al. 1987, Barrandeguy et al. 2010b, Ferreira et al. 2010, Barba et al. 2015), Ásia (Uppal et al. 1989, Seki et al. 2004, Kirisawa et al. 2017, Yurov & Alekseenkova 2018), Europa (Petzoldt 1970, Gibbs et al. 1972), África (Dubale 2017), e Oceania (Pascoe et al. 1972). No entanto, as informações sobre a soroprevalência são limitadas e as taxas relatadas variam de 6% a 48% (Soboll et al. 2019). Por exemplo, no Brasil não há levantamentos epidemiológicos disponíveis, e existe apenas um relato que descreve a doença em um garanhão de Minas Gerais, região sudeste do país. (Ferreira et al. 2010).

Neste artigo, relatamos um surto de ECE em uma fazenda de cavalos do semiárido do Estado do Rio Grande do Norte, nordeste do Brasil. E discutimos a literatura sobre as principais características epidemiológicas, clínicas e diagnósticas da ECE em equinos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Um surto de doença reprodutiva foi observado em um rebanho de 43 cavalos da raça pônei brasileiro em uma fazenda de 800 hectares no município de Santa Cruz, Estado do Rio Grande do Norte, nordeste do Brasil. O clima nesta região é semiárido, com médias elevadas de temperatura e chuvas escassas e irregularmente distribuídas ao longo do ano. O bioma característico dessa região é a Caatinga brasileira, que é composta predominantemente por vegetação xerófila, lenhosa, espinhosa e caducifolia.

O rebanho consistia em 5 garanhões, 17 éguas, 8 potros, 5 potras e 8 neonatos. O rebanho era mantido durante o dia em piquetes sombreados, sendo separados de acordo com as idades e categorias. No início da manhã e no final da tarde, os animais eram alojados em estábulos, onde recebiam feno de alfafa (*Medicago sativa*), ração comercial contendo flocos de milho, cevada, aveia, e extrusados de milho e soja, gérmen de trigo e massa de cana-de-açúcar. Além disso, os cavalos recebiam sal mineral contendo fosfato bicálcico, cloreto de sódio, óxido de magnésio, selenito de sódio, iodato de cálcio, sulfato de cobalto, sulfato de ferro, sulfato de cobre e sulfato de zinco. A água permanecia disponível *ad libitum*. Os cavalos eram vacinados rotineiramente contra raiva, tétano, encefalomielite e gripe. Não havia histórico de vacinação contra herpesvírus.

Um dos garanhões era oriundo do estado de São Paulo, e havia sido introduzido no rebanho para ser o principal reprodutor da fazenda duas semanas antes da observação dos sinais clínicos. Imediatamente após sua chegada, foi acasalado com cinco éguas. Ao exame clínico 20 dias após a introdução no rebanho, este garanhão apresentava sinais clínicos graves. O proprietário anterior do animal relatou que havia na sua tropa outras duas éguas apresentando uma história constante de abortos no final da gravidez e um potro era cego devido a uma ceratoconjuntivite severa no olho esquerdo. Não foram realizados testes laboratoriais para diagnosticar as causas dos abortos nestas éguas nem a doença oftálmica no potro.



O garanhão e três éguas foram examinados clinicamente detalhadamente quanto ao seu estado geral, temperatura retal, frequência cardíaca e respiratória e um exame completo do prepúcio, pênis, vagina, pele perivaginal e perineal. Biópsias do prepúcio e lábios do garanhão com sinais graves de ECE foram coletadas no momento do exame. O proprietário não autorizou biópsias nas éguas por apresentarem lesões cicatrizadas. As amostras de sangue foram coletadas por venopunção jugular em tubos a vácuo com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Fragmentos de biópsias do garanhão e amostras de sangue total das éguas e do garanhão foram coletados para hemograma completo, extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para EHV-3. A extração de DNA de sangue total e tecido foi realizada usando o PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific) de acordo com as recomendações do fabricante. A PCR para detecção de DNA genômico de EHV-3 foi realizada com conjuntos de iniciadores direcionados ao gene viral que codifica a glicoproteína G (gG), assim como descrito por Dynon et al. (2001). As localizações e sequências de primers foram as seguintes: (sense: 792-812) 5'-GCGCTCTCTCGGCCTTGCCAG-3' e (antisense: 1309-1290) 5'-GGCGTCTCGAAAAGCGAGAG-3'. As reações de amplificação foram realizadas em 25 µL contendo Tampão 1 X, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 mM cada dNTP (Invitrogen-BRL), 0,4 pM de cada iniciador, 1U Taq DNA polimerase (Invitrogen-BRL) e 200 ng de DNA molde. As condições de ciclagem incluíram cinco minutos a 95 °C, 30 ciclos de 94°C por um minuto, 60°C por um minuto e 72°C por um minuto, seguidos por uma extensão final por 7 minutos a 72°C. Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% com coloração por brometo de etídio (Ferreira et al., 2010). GAPDH mamífero foi amplificado como um controle interno da eficiência de amplificação, conforme descrito anteriormente (Shi & Roy-Burman 2000).

Além disso, amostras obtidas de biópsias do prepúcio do garanhão foram fixadas em formaldeído a 10%, rotineiramente processadas para histologia, coradas com hematoxilina e eosina (HE) e avaliadas em microscopia de luz.

Após o diagnóstico clínico, o garanhão com lesões de ECE e as éguas foram mantidos sem atividade sexual durante 60 dias. O garanhão recebeu 15 mg / kg / IV de sulfa trimetoprim por sete dias e tratamento local com solução de iodo até a cicatrização. Além disso, um spray de inseticida foi aplicado topicamente para prevenir infestação por míase.

## RESULTADOS

O surto ocorreu entre o final de maio e o início de junho e a morbidade foi de 9,3%; quatro cavalos adultos de 43 animais expostos foram afetados. O veterinário responsável pelo rebanho relatou que cinco éguas que acasalaram com o garanhão apresentaram hiporexia (3/5), secreção vaginal serosa (2/5) e algumas vesículas na mucosa vaginal que evoluíram para úlceras (2/5). Duas das três éguas examinadas apresentavam lesões leves que consistiam em descoloração da pele perivulvar (consistente com lesões cicatrizadas) e leve hiperemia da mucosa da vagina. No garanhão, a doença foi constatada pela primeira vez quando ele se recusou a acasalar e mostrou sinais clínicos de dor ao expor o pênis. Após cinco dias da observação desses primeiros sinais clínicos, o garanhão apresentou febre moderada, anorexia e a doença evoluiu para a observação de exsudato fibrino-purulento drenando do óstio prepucial. Ao exame físico observaram-se lesões circulares graves, multifocais, umbilicadas, exantematosas e erosivas de aproximadamente 1 cm de diâmetro na glândula e na mucosa prepucial (Fig. 1A). Essas lesões apresentavam bordas hiperêmicas com centro recoberto por material exsudativo fibrinoso (Fig. 1B), e eventualmente formaram um padrão coalescente no corpo do pênis e na glândula. Além disso, áreas multifocais de erosões e crostas na pele e nas junções mucocutâneas do prepúcio e do pênis. Outras áreas onde úlceras e crostas foram observadas multifocalmente incluíram a pele do escroto e nos lábios e junções mucocutâneas da cavidade oral (Fig. 1C). Não foram observadas alterações cardíacas e respiratórias ou alterações hematológicas nas éguas ou garanhões.



Figura 1. Exantema coital equino em um garanhão. (A) Edema, hemorragias petequiais e ulceração do prepúcio, com exsudação purulenta de fibrina e lesões circulares multifocais umbilicadas, exantematosas e erosivas de aproximadamente 1 cm de diâmetro formando um padrão coalescente na mucosa peniana. (B) Visão mais próxima do pênis de um garanhão com balanopostite ulcerativa grave com exsudação de fibrina. (C) Lesões ulcerativas e crostosas na junção mucocutânea da boca em garanhão infectado pelo herpesvírus tipo 3. (D) Prepúcio com dermatite necrosante com acantose, notável infiltrado inflamatório e perivasculite. HE. Obj. 10x. (E) Maior aumento da epiderme do prepúcio com degeneração balonosa grave dos queratinócitos e necrose epitelial. HE. Obj. 40x. (F) Queratinócito contendo corpúsculo de inclusão eosinofílico intranuclear medindo 4-7  $\mu\text{m}$ . HE. Obj. 100x.

Histologicamente, a lesão principal consistia em balanopostite multifocal ulcerativa e necrosante fibrinosa grave e necrosante multifocal leve, dermatite linfocítica de lábios e escroto. Na epiderme do prepúcio havia acantose moderada a grave e áreas multifocais de acantólise mescladas com infiltrado inflamatório composto por neutrófilos degenerados, linfócitos e macrófagos. Nessas áreas, havia degeneração balonosa acentuada das células epiteliais nas camadas basal e espinhosa da epiderme (Fig. 1D e 1E). Além disso, foi observado um número significativo de células epiteliais contendo corpúsculos de inclusão intranucleares eosinofílicos evidentes (Fig. 1F) e, eventualmente, pústulas contendo bactérias do

tipo cocos foram identificadas. Na mucosa do pênis havia áreas multifocais de necrose associadas a inflamação moderada a grave, também composta por neutrófilos, linfócitos, macrófagos, grandes quantidades de eosinófilos e fibrina. Com menor frequência, o mesmo padrão de inflamação no tecido conjuntivo e perivasculite linfocítica leve a moderada nos vasos da derme do prepúcio e mucosa do pênis também foi observado. Lesões semelhantes foram observadas nos lábios e escroto, mas em geral eram menos graves. Um único produto de amplificação de aproximadamente 518 bp compatível com EHV-3 foi amplificado de amostras de DNA extraídas da mucosa do pênis e amostra de sangue total do garanhão. Não houve amplificação da sequência genética do EHV-3 esperada nas amostras de sangue das três éguas examinadas.

As lesões nas vaginas das éguas foram cicatrizadas e nenhum sinal clínico de ECE foi observado durante os 12 meses seguintes. Após 21 dias de tratamento, as lesões do garanhão estavam completamente curadas.

## DISCUSSÃO

O diagnóstico de ECE foi estabelecido com base na epidemiologia, sinais clínicos, achados macroscópicos, histológicos e amplificação de sequências de DNA de EHV-3 em amostras de biópsia de mucosa do pênis e sangue total em um garanhão com balanopostite multifocal grave. Desta forma, o EHV-3 foi considerado o agente etiológico responsável pela doença reprodutiva observada pelo veterinário da fazenda nas três éguas afetadas que apresentaram vulvovaginite. O histórico dos equinos sugere que a introdução do garanhão duas semanas antes do início da ocorrência da doença pode ter sido responsável pela disseminação da infecção neste rebanho. Esta hipótese é viável porque o método primário de transmissão do vírus é venéreo e ocorre devido ao contato direto pele a pele com um equino com infecção aguda (Allen & Umphenour 2004, Seki et al. 2004, Lu & Morresey 2007).

Outra possibilidade de transmissão seria uma forma não coital, onde o garanhão possa ter realizado a difusão viral através contato oral ou genitonasal, devido ao comportamento de cheirar ou lambe a genitália da égua, o que tem sido proposto como uma das possibilidades de infecção e disseminação da doença (Barrandeguy et al. 2010b, Barrandeguy & Thiry 2012).

Lesões genitais de ECE em cavalos são bastante típicas, permitindo um diagnóstico clínico presuntivo (Bryans 1980, Bryans & Allen 1989, Lu & Morresey 2007, Barrandeguy & Thiry 2012), e apesar das éguas do nosso estudo terem apresentado história recente de vulvovaginite compatível com ECE, não houve amplificação do DNA do EHV-3 em suas amostras de sangue total. Esse fator pode ser explicado por a temperatura sanguínea não oferecer condições ideais para manutenção e multiplicação do EHV-3, levando a baixos níveis de viremia em alguns equinos infectados (Allen & Umphenour 2004). No entanto, em alguns casos é possível a detecção de DNA de EHV-3 em amostras de sangue, como constatado no presente estudo (Ferreira et al. 2010).

Não há laboratórios comerciais que forneçam testes sorológicos de rotina para EHV-3. Apesar disso, as amostras de soro são úteis para demonstração de soroconversão e títulos de anticorpos (Seki et al. 2004, Kirisawa et al. 2017). Além disso, as técnicas de diagnóstico molecular são úteis para a detecção de EHV-3 em tecidos afetados (Bouchev et al 1987, Seki et al. 2004, Vissani et al. 2018, Vissani et al. 2020). Portanto, assim como neste caso, as amostras utilizadas para confirmação laboratorial de EHV-3 podem ser obtidas das bordas de lesões ativas frescas por biópsia ou por raspagem ou esfregaço (Ferreira et al. 2010). Amostras de sangue podem ser úteis durante doenças agudas até 3-4 semanas depois (Ferreira et al. 2010). Além disso, as amostras para isolamento de vírus podem ser submetidas a um laboratório apto em 1-3 mL de meio de transporte viral sob refrigeração (Barrandeguy et al. 2012, Kirisawa et al. 2017).

Outros sinais clínicos de ECE incluem prurido na cauda, micção frequente ou arqueamento das costas e linfadenopatia anorretal, constipação, tenesmo e evacuação de fezes firmes, secas e cobertas de muco, sendo estes relatados em éguas gravemente afetadas por EHV-3 (Allen & Umphenour 2004, Barrandeguy 2010a). Esses sinais clínicos não foram observados neste estudo provavelmente porque a doença era leve neste grupo de animais. Em contraste, o garanhão apresentava sinais clínicos mais graves de ECE, incluindo desconforto, perda da libido e recusa em cobrir as éguas, conforme relatado anteriormente em casos graves em reprodutores. (Bryans & Allen 1989, Allen & Umphenour 2004, Gulati et al. 2019). A infecção bacteriana secundária das lesões genitais por *Streptococcus zooepidemicus* é uma consequência importante, pois é comum e influencia a gravidade e a duração das lesões epiteliais. Por esse motivo, o tratamento deve incluir: 1. limpeza diária das lesões e da genitália com anti-sépticos, 2. redução da inflamação com anti-inflamatórios corticóides, 3. administração de antimicrobianos de amplo espectro e 4. limitação da atividade sexual até a as lesões cicatrizarem para evitar a propagação da infecção (Allen & Umphenour 2004, Lu & Morresey 2007). Além disso, uma tentativa de tratamento pode ser feita usando uma formulação de creme tópico de aciclovir a 5% (Cullinane et al. 1994).

O aborto não é uma consequência da infecção por EHV-3 (Barrandeguy & Thiry 2012), com relação à história clínica prévio de aborto de algumas éguas e ceratoconjuntivite em um potro relatada pelo proprietário da fazenda, é possível a ocorrência de coinfeção de EHV-3 e EHV-1 neste rebanho. É importante ressaltar que nenhuma amostra de fetos abortados foi enviada ao nosso laboratório para diagnóstico, e a sorologia para EHV-1 não foi realizada. No entanto, vários relatos têm demonstrado a presença de anticorpos específicos contra EHV-1 em cavalos no Brasil (Alencar-Araripe et al. 2014, Diaz et al. 2015, Estima-Silva et al. 2019) e mais estudos para investigar a possível associação de diferentes tipos de herpesvírus equino causando distúrbios reprodutivos, respiratórios, neurológicos e oftálmicos devem ser feitos no país.

Não há vacinas ou terapias antivirais disponíveis para ECE. A prevenção consiste no exame clínico de éguas e garanhões antes do acasalamento e retirando-os das atividades de reprodução temporariamente quando as lesões estão presentes. Além disso, a quarentena deve ser uma prática regular quando novos animais são introduzidos no rebanho. No entanto, é importante enfatizar que esta abordagem não é suficiente para identificar cavalos subclínicamente afetados ou com infecções latentes. (Barrandeguy et al. 2008, Vissani et al. 2020).

A ECE é endêmica na maioria das populações equinas em todo o mundo e os surtos podem levar a perdas econômicas consideráveis, porque interrompem as atividades de reprodução, causam depreciação econômica de éguas e garanhões e envolve a necessidade de terapia medicamentosa em animais gravemente afetados (Barrandeguy et al. 2012). Surpreendentemente, houve apenas um caso relatado anteriormente de infecção por EHV-3 foi associado como causa de balanopostite em um cavalo no Brasil (Ferreira et al. 2010), e nenhum caso foi relatado em éguas. Certamente, casos de ECE devem ocorrer em todas as regiões do país, porém não tem sido diagnosticados adequadamente ou não estão sendo relatados, e até o momento, nenhum estudo científico amplo foi feito para medir o impacto econômico do ECE no negócio de cavalos no Brasil. Por esses motivos, novos estudos com o objetivo de avaliar a epidemiologia do ECE no Brasil devem ser realizados.

**AGRADECIMENTOS** - A “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior” (CAPES), Código de Financiamento 001, e ao “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq), Processo 304804/2018-5, pela concessão do suporte financeiro necessário para o desenvolvimento deste estudo.

**CONFLITO DE INTERESSE** – Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## REFERÊNCIAS

- Alencar-Araripe MG., Castelo-Branco D., Campelo C.C., Silva A., Silva M.C., Dias A.V., Medeiros C.M.O. & Nunes-Pinheiro D.C.S. 2014. Serological evidences of EHV-1/EHV-4 in vaquejada horses from Ceará state, Brazil. *Rev. Bras. Hig. San. Anim.* 8(2):203-217.
- Agius C.T. & Studdert M.J. 1994. Equine herpesviruses 2 and 5: comparisons with other members of the subfamily gammaherpesvirinae, p.357-379. In: *Advances in virus research*. Vol.44. Academic Press.
- Allen G. & Umphenour N. 2004. Equine coital exanthema, p.860-867. In: Coetzer J. & Tustin R. *Infectious Diseases of Livestock*. Oxford Press, Cape Town, South Africa.
- Barba M., Stewart A.J., Shrader S.M., Koehler J.W., Johnson A.K. & Caldwell F.J. 2015. Keratitis and periocular lesions associated with equine herpesvirus-3 in a 3-month-old filly. *Equine Vet. Educ.* 27(12):618-622.
- Barrandeguy M. & Thiry E. 2012. Equine coital exanthema and its potential economic implications for the equine industry. *Vet. J.* 191(1):35-40.
- Barrandeguy M., Perkins J., Mac Donough J., Vissani A., Olguin C. & Thiry E. 2010a. Occurrence of equine coital exanthema in mares from an embryo transfer center. *J. Equine Vet. Sci.* 30(3):145-149.
- Barrandeguy M., Ulloa N., Bok K. & Fernández F. 2010b. Outbreak of rhinitis caused by equine herpesvirus type 3. *Vet. Rec.* 166:178-179.
- Barrandeguy M., Vissani A., Olguin C., Becerra L., Miño S., Pereda A., Oriol J. & Thiry, E. 2008. Experimental reactivation of equine herpesvirus-3 following corticosteroid treatment. *Equine Vet. J.* 40(6):593-595.
- Barrandeguy, M., Vissani A., Olguin C., Barbara G., Valenzuela H.; Becerra L., Tordoya M., Miño S. & Thiry E. 2012. Experimental infection with equid herpesvirus 3 in seronegative and seropositive mares. *Vet. Microbiol.* 160(3-4):319-326.

- Bouchev D., Evermann J. & Jacob R.J. 1987. Molecular pathogenesis of equine coital exanthema (ECE): temperature sensitivity (TS) and restriction endonuclease (RE) fragment profiles of several field isolates. *Arch. Virol.* 92(3-4):293-299.
- Bryans J.T. & Allen G.P. 1989. Herpesviral Diseases of the Horse. In: Wittmann G. (eds) *Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses, and Pigs. Developments in Veterinary Virology*, vol 9. Springer, Boston, MA.
- Bryans JT. 1980. Herpesviral diseases affecting reproduction in the horse. *Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.* 2(2):303-312.
- Cicolo S., Campos A.C.A., Oliveira C.M., Poltronieri T., Góes L.G.B., Silveira V.B., Barbosa C.M., Baccarin R.Y.A., Oliveira D.B.L., Belli C.B. & Durigon E.L. 2019. Potential Outbreak in Brazil by Equine Herpesvirus Type 2 (EHV-2): Detection, Clinical and Genetic Analysis of Equine Gammaherpesvirus 2. *BioRxiv*, 809053.
- Crabb B.S. & Studdert M. J. 1995. Equine herpesviruses 4 (equine rhinopneumonitis virus) and 1 (equine abortion virus), p. 153-190. In: *Advances in virus research*. Vol. 45. Academic Press.
- Cullinane A., McGing B. & Naughton C. 1994. The use of acyclovir in the treatment of coital exanthema and ocular disease caused by equine herpesvirus, p. 55. In: Plowright W., Nakajima H. (Eds.), *Equine Infectious Diseases VII*, 3rd ed. R & W Publications, Newmarket (Suffolk).
- Diaz, K.A.D., Hübner S.O., Vargas G.D., Fischer G., Lilenbaum W. & Lima M. 2015. Identification of equine herpesvirus type 1 as cause of abortion in mares in Southern Brazil. *Ciênc. Anim. Bras.* 16(3):410-418.
- Dubale H.N. 2017. Epidemiology of equine herpesviruses (EHVs) in Ethiopian equids and invasion characteristics of EHV-1 and EHV-3 in respiratory and genital mucosae. *Tese de Doutorado*, Ghent University, Ghent, Bélgica. 159p.
- Dunuwille W.M., YousefiMashouf N., Balasuriya U.B., Pusterla N. & Bailey E. 2020. Genome-wide association study for host genetic factors associated with equine herpesvirus type-1 induced myeloencephalopathy. *Equine Vet. J.* 00: 1-5.
- Estima-Silva P., Riet-Correa F., Coelho A.C.B., Echenique J.V.Z., Marcolongo-Pereira C., Lima M., Diel D.G. & Schild A.L. 2019. Identification of equine herpesvirus type 1 as cause of abortion in mares in Southern Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 71(4):1421-1424.
- Ferreira C., Costa E.A., França S.A., De Melo U.P., Drumond B.P., Bomfim M.R.Q., Coelho F.M., Resende M., Palhares M.S. & Santos R.L. 2010. Equine coital exanthema in a stallion. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 62(6):1517-1520.
- Gerst S., Borchers K., Gower S.M. & Smith K.C. 2003. Detection of EHV-1 and EHV-4 in placental sections of naturally occurring EHV-1-and EHV-4-related abortions in the UK: use of the placenta in diagnosis. *Equine Vet. J.* 35(5): 430-433.
- Gibbs E.P.J., Roberts M.C. & Morris J.M. 1972. Equine coital exanthema in the United Kingdom. *Equine Vet. J.* 4(2):74-80.
- Gleeson L.J., Sullivan N.D. & Studdert M.J. 1976. Equine herpesviruses: type 3 as an abortigenic agent. *Aust. Vet. J.* 52(8): 349-354.
- Gulati B.R., Virmani N. & Tripathi B.N. 2019. Equine Herpesviruses, p. 51-70. In: Malik Y.S., Singh R.K. & Yadav M.P. *Recent Advances in Animal Virology*. Springer, Singapore.
- Kershaw O., Von Oppen T., Glitz F., Deegen E., Ludwig H. & Borchers K. 2001. Detection of equine herpesvirus type 2 (EHV-2) in horses with keratoconjunctivitis. *Virus Res.* 80(1-2):93-99.
- Kirisawa R., Toishi Y., Akamatsu A., Soejima K., Miyashita T. & Tsunoda N. 2017. Isolation of equine herpesvirus 3 (EHV-3) from equine coital exanthema of two stallions and sero-epidemiology of EHV-3 infection in Japan. *J. Vet. Sci.* 16:0518.
- Léon A., Fortier G., Fortier C., Freymuth F., Tapprest J., Leclercq R. & Pronost S. 2008. Detection of equine herpesviruses in aborted fetuses by consensus PCR. *Vet. Microbiol.* 126(1-3):20-29.
- Lu K.G. & Morresey P.R. 2007. Infectious diseases in breeding stallions. *Clin. Tech. Equine Pract.* 6(4):285-290.
- MacLachlan N.J. & Dubovi E.J. 2011. Herpesvirales, p. 179-201. In: *Fenner's Veterinary Virology*, 4th ed. Academic Press, San Diego.
- Marenzoni M.L., Stefanetti V., Danzetta M.L. & Timoney P.J. 2015. Gammaherpesvirus infections in equids: a review. *Vet. Med: Res. Rep.* 6:91-101.
- Pascoe R.R., Bagust T.J. & Spradbrow P.B. 1972. Studies on equine herpesviruses: 4. Infection of horses with a herpesvirus recovered from equine coital exanthema. *Aust. Vet. J.* 48(3): 99-104.
- Petzoldt K. 1970. Equine coital exanthema. *Berl. Munch. Tierarztl.* 83: 93-95.
- Seki Y., Seimiya Y.M., Yaegashi G., Kumagai S.I., Sentsui H., Nishimori T. & Ishihara R. Occurrence of equine coital exanthema in pastured draft horses and isolation of equine herpesvirus 3 from progenital lesions. 2004. *J. Equine Vet. Sci.* 66(12):1503-1508.
- Shi Y. & Roy-Burman P. 2000. A novel truncated env gene isolated from a Feline Leukemia Virus-induced thymic lymphosarcoma. *J. Virol.* 74:1451-1456.

- Hussey G.S., Osterrieder N. & Azab W. 2019. Equine Herpesviruses. Ref. Mod. Life Sci. 1-9.
- Taulescu M., Amorim I. & Washabau R. 2021. Esophagus and Stomach, p. 380-393. In: Sharkey L.C., Radin M.J., Seelig D. *Veterinary Cytology*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.
- Uppal P.K., Yadav M.P., Singh B.K. & Prasad S. 1989. Equine Coital Exanthema (EHV-3 Virus) Infection in India. *J. Vet. Med.* 36(1-10):786-788.
- Verryken K., Saey V., Maes S., Borchers K., Van de Walle G., Ducatelle R. & Deprez P. 2010. First report of multinodular pulmonary fibrosis associated with equine herpesvirus 5 in Belgium. *Vlaams Diergen Tijds.* 79(4):297-301.
- Vissani M.A., Perglione C.O., Zabal O., Alvarez G., Thiry E., Barrandeguy M. & Parreño V. 2020. Topical ganciclovir reduces viral excretion in mares with equine coital exanthema. *J. Equine Vet. Sci.* 94:103199.
- Vissani M.A., Tordoya M.S., Tsai Y.L., Lee P.Y., Shen Y.H., Lee F.C., Wang H.T.T., Parreño V. & Barrandeguy M. 2018. On-site detection of equid alphaherpesvirus 3 in perineal and genital swabs of mares and stallions. *J. Virol. Methods.* 257:29-32.
- Williams K.J., Robinson N.E., Lim A., Brandenberger C., Maes R., Behan A. & Bolin S.R. 2013. Experimental induction of pulmonary fibrosis in horses with the gammaherpesvirus equine herpesvirus 5. *PLoS One.* 8(10):e77754.
- Yurov K.P. & Alekseenkova S.V. 2018. Coital exanthema of horses: diagnosis and identification of the pathogen. *Rus. Vet. J.* 6:5-8.

## 5. ANEXOS

### 5.1 Anexo 1- Normas da revista

#### PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

1. Os artigos devem ser organizados em **Título, Abstract, Resumo, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões** (de preferência os últimos três separadamente), Agradecimentos, Declaração de conflito de interesse e Referências:

O **TÍTULO** deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

**O(s) Autor(es) com numerosos primeiros nomes e sobrenomes, deve(m) padronizar o seu “nome para publicações científicas”,** como por exemplo: Cláudio Severo Lombardo de Barros, escreve Cláudio S.L. Barros ou Barros C.S.L.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F. **Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores.** O autor para correspondência deve ser um autor que garanta o contato com o Conselho Editorial da PVB. Asteriscos de chamadas para o rodapé não devem ser sobrescritos.

O **Cabeçalho do ABSTRACT** deve conter além dos nomes dos autores abreviados invertido, o ano, o **TÍTULO**, o endereço postal do laboratório (inclusive o CEP) ou instituição principal onde foi desenvolvida a pesquisa. Endereços postais brasileiros não devem ser traduzidos para o inglês, mesmo em artigos escritos na língua inglesa, a fim de evitar dificuldade na postagem. Deve-se conferir os nomes dos autores do artigo e do Cabeçalho do Abstract para evitar discrepâncias.

O **Rodapé** da primeira página deve conter os endereços profissionais postais completos dos autores (evitando-se traços horizontais), na língua do país do respectivo autor (em português, espanhol, inglês) e seus e-mails; o e-mail do autor para correspondência deve ser sublinhado. Os sinais de chamada para os nomes dos autores devem ser números arábicos, colocados em sobrescrito, sem o uso automático de “Inserir nota de fim”, do Word (essas chamadas devem ser contínuas por todo artigo, isto é, em todas as notas de rodapé das outras páginas).

O **ABSTRACT** deve ser uma versão do RESUMO, mas pode ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que devem incluir termos do título, por não se tratar somente de “ADDITIONAL INDEX TERMS”.

O **RESUMO** deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem termos do título, por não se tratar somente de “TERMOS DE INDEXAÇÃO ADICIONAIS”.

A **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal e deve finalizar com a indicação do objetivo do artigo.

**MATERIAL E MÉTODOS** deve reunir a totalidade dos dados que permitam o desenvolvimento de trabalho semelhante por outros pesquisadores.

Em **RESULTADOS** devem ser apresentados concisamente os dados obtidos.

Na **DISCUSSÃO** devem ser confrontados os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los.

**CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados obtidos e devem ser apresentados em diferentes parágrafos (uma Conclusão somente deve ser apresentada em parágrafo único). Os Agradecimentos não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé; devem ser sucintos e colocados antes da Declaração de conflito de interesse e da Lista de Referências. A Declaração de conflito de interesse é obrigatória e deve ser mencionada nos casos positivos ou negativos; deve ser sucinta e colocada imediatamente antes da Lista de Referências.

A Lista de **REFERÊNCIAS** deve incluir todas as citações apresentadas no texto e que tenham servido como fonte para consulta. A Lista deve ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido de todos os demais autores (em caixa alta e baixa), do ano, do título da publicação citada, e abreviado (por extenso em casos de dúvida) o nome do periódico. Sugerimos consultar exemplos dos últimos fascículos (Notem: (1) As Referências citadas no texto devem ser colocadas em ordem cronológica, mas alfabética tratando-se de referências do mesmo ano; (2) quando utilizados programas de formatação (p.ex. Endnote X7), remover o fundo automático cinzento antes da submissão, para não dificultar eventuais correções.

## 2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:

Fonte **Cambria, corpo 10, entrelinha simples; página formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), texto corrido em uma coluna justificada, com as Legendas das Figuras no final (logo após a Lista de REFERÊNCIAS) sem repetir as legendas junto com as Figuras.

**ABSTRACT** e **RESUMO** serão escritos em um só parágrafo corrente e não devem conter citações bibliográficas. A redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal.

Os nomes científicos usados no manuscrito devem ser apresentados por extenso (p.ex. *Palicourea marcgravii*), no início de cada capítulo (**Título, Abstract, Resumo, Introdução**, etc.), quando aparecem pela primeira vez, seguido da abreviação do gênero (p.ex. *P. marcgravii*).

Nos títulos dos **Quadros** e nas **Legendas das Figuras** os nomes científicos devem ser apresentados por extenso, já que estes são independentes do texto.

No texto, os sinais de chamada para notas de rodapé devem ser números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word. Notem: para evitar a separação em duas linhas, os numerais devem ser apresentados junto com suas unidades, ou seja, sem espaçamento, por exemplo: 100ppm, 10mm, 50cm, 18x10cm, (P<0,05), 15h. A abreviação de número é "n<sup>o</sup>" e não "n°" ; grau Celsius é “ °C” e não “°C”.

Os Quadros (não usar o termo Tabela) e as Figuras devem ser citados no texto, pelos respectivos números, em ordem crescente e devem ser submetidos separadamente do texto!



Siglas e abreviações das instituições, ao aparecerem pela primeira vez, deverão ser colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso.

Citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”, p.ex. (Caldas 2005); artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois (Pedroso & Pimentel 2013); e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano (Brito et al. 2015); se dois artigos não se distinguirem, a diferenciação será feita através do acréscimo de letra minúscula ao ano (Barros 2017a, 2017b). A ordem de citação deve ser cronológica (Barbosa et al. 2003, Armien et al. 2004).

**Recomenda-se consultar na íntegra todos os artigos citados**; se isto não for possível, deve-se colocar no texto a referência original (não consultada na íntegra) seguida do ano, p.ex. (Bancroft 1921); na Lista de Referências deve ser incluída a referência original como: Bancroft 1921. .... título. ... periódico. (Apud Suvarna & Layton 2013). A referência consultada também deve ser incluída na Lista de Referências.

O uso de “comunicação pessoal” e de “dados não publicados” deve ser feito apenas em casos excepcionais; no texto com citação de Nome e Ano, e na Lista de Referências como: Barbosa 2016. Comunicação pessoal (Universidade Federal do Pará, campus Castanhal).

As **Legendas das Figuras** devem conter informações suficientes para sua compreensão (independente do texto); e devem ser precedidas de “Fig.” seguida do número sem espaço, p.ex. “Fig.8. ...”. Para elaboração das legendas sugerimos consultar exemplos nos últimos fascículos. (Notem: Na legenda de Figuras compostas deve-se colocar a letra de cada “subfigura” em negrito com parênteses claros antes do texto correspondente e devem ser mencionados letras ou sinais, que estão dentro de cada “subfigura”, em parênteses e claros após o respectivo texto da legenda.)

O Título dos **Quadros** devem ser em **negrito**, sem ponto, e a “garganta” (título das colunas) deve ser escrita em claro e separada por dois traços longos horizontais; o Título dos Quadros e da “garganta” devem ser escritas em caixa alta e baixa. Os Quadros (não usar o termo Tabela) devem conter os resultados mais relevantes. Não há traços verticais, nem fundos cinzentos; excepcionalmente pode conter traços horizontais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, com “a” em cada Quadro. As chamadas de rodapé deverão ser lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda; e devem evitar números arábicos. Os títulos não têm ponto no final, ao passo que as legendas terminam com um ponto. Os Quadros devem ser apresentados em Word e ser editáveis, a fim de inserirmos eventuais alterações de apresentação, dentro das normas da revista.

Dados complexos devem ser expressos por Gráficos (devem ser chamados de Figuras). Os gráficos devem ser produzidos em 2D, **sem fundo e sem linhas horizontais**. Em gráficos contendo texto a fonte deve ser Cambria tamanho 10.

### 3. Apresentação das Figuras

As figuras devem ser salvas em 300dpi, arquivo TIF.

Enviar cada figura separadamente.

Identificar as figuras em ordem conforme a menção no texto.

As figuras solitárias devem ter seus arquivos identificados como (Fig.1, Fig.2 ...).

As figuras que serão destinadas a formar uma prancha devem ter seus arquivos identificados como (Fig.1A, Fig.1B...). As pranchas devem ser compostas por múltiplas subfiguras. Imagens destinadas a uma prancha devem ser de mesmo tamanho.

Para micrografias usar, de preferência, barras de escala para indicar o aumento; apresentar na legenda sempre o método de coloração e a objetiva, p. ex.: HE, obj.40x.

As legendas de figuras devem conter inicialmente o que se observa na imagem, seguida das informações adicionais (Formato típico da legenda: Fig.1. (A) Descrição da imagem. Diagnóstico, órgão ou tecido, espécie animal, número do caso. Método de coloração e objetiva.).

As legendas de figuras devem ser apresentadas junto com o texto do artigo, após as Referências.

**4. Todas as referências citadas no texto devem ser incluídas na Lista de Referências e viceversa; na revisão final do artigo pelos autores, antes da submissão, isto deve ser conferido criteriosamente, para evitar discrepâncias (o sistema ScholarOne bloqueia automaticamente artigos com discrepâncias).**

#### Exemplos de Referências

##### **Artigos publicados em periódicos:**

Martins K.P.F., Fonseca T.R.S., Silva E.S., Munhoz T.C.P., Dias G.H.S., Galiza G.J.N., Oliveira L.G.S. & Boabaid F.M. 2018. Bócio em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 38(6):1030-1037.

Rondelli L.A.S., Silva G.S., Bezerra K.S., Rondelli A.L.H., Lima S.R., Furlan F.H., Pescador C.A. & Colodel E.M. 2017. Doenças de bovinos no Estado de Mato Grosso diagnosticadas no Laboratório de Patologia Veterinária da UFMT (2005-2014). *Pesq. Vet. Bras.* 37(5):432-440.

Hooiveld M., Smit L.A., Wouters I.M., Van Dijk C.E., Spreeuwenberg P., Heederik D.J. & Yzermans C.J. 2016. Doctor-diagnosed health problems in a region with a high density of concentrated animal feeding operations: a cross-sectional study. *Environ. Health* 17:15-24.

(Notem: Os iniciais dos autores devem ser colocados sem espaço. O sinal “&” é usado para separar o penúltimo do último autor. As primeiras letras das palavras do título de artigos publicados em periódicos científicos devem ser de preferência minúsculas. A palavra “Revista” deve ser abreviada como “Revta” em diferença a “Rev.”, do inglês “Review”. Deve-se indicar o número do respectivo volume do periódico e, se possível, também do fascículo. Somente abreviações tem um ponto, exceto as que terminam com a última letra da palavra em extenso. O traço entre as páginas é curto (-) e não comprido. Não devem ser usados “pontovírgulas” (;) em lugar de vírgulas.

##### Livros

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. *Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção*. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, p.305-348.

Marsh P. & Martin M. 1992. *Oral Microbiology*. 3rd ed. Chapman and Hall, London, p.167-196. (Notem: A primeira letra de termos do título de livros deve ser maiúscula. Devem ser mencionadas as páginas que foram consultadas, em vez do total de páginas do livro.

##### Capítulos de livros:

Barros C.S.L. 2007. Doenças víricas: leucose bovina, p.159-169. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas que afetam o funcionamento do coração, p.27-94. In: Ibid. (Eds), Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro.

(Notem: As primeiras letras das palavras do título de capítulos de livros são minúsculas, mas as de livros são maiúsculas.)

#### Dissertações e Teses:

Rech R.R. 2007. Alterações no encéfalo de bovinos submetidos à vigilância das encefalopatias espongiiformes transmissíveis. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 228p. (Notem: (1) Deve-se evitar citações de Dissertações ou Teses; deve-se preferir citar artigos baseados nas mesmas e publicados em periódicos científicos que são de mais fácil acesso. (2) Não se deve tentar de publicar o texto de Dissertação ou Tese praticamente na íntegra sem escrever um artigo conciso de seus resultados.)

#### Resumos publicados em eventos:

Mendonça F.S., Almeida V.M., Albuquerque R.F., Chaves H.A.S., Silva Filho G.B., Braga T.C., Lemos B.O. & Riet Correa F. 2016. Paralisia laríngea associada à deficiência de cobre em caprinos no semiárido de Pernambuco (IX Endivet, Salvador, BA). *Pesq. Vet. Bras.* 36(Supl.2):50-51. (Resumo)

Pierezan F., Lemos R.A.A., Rech R.R., Rissi D.R., Kommers G.D., Cortada V.C.L.M., Mori A.E. & Barros C.S.L. 2007. Raiva em equinos. *Anais XIII Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Campo Grande, MS*, p.145-146. (Resumo). (Notem: Evitar na consulta o uso de Resumos ao invés de artigos na íntegra!)

## 5.2 Anexo 2- Carta de aceite do artigo na revista Pesquisa Veterinária Brasileira

De: David Driemeier <onbehalf@manuscriptcentral.com>

Data: 24 de março de 2021 06:54:30 BRT

Para: fabio.mendonca@ufrpe.br

Assunto: Pesquisa Veterinária Brasileira - Decision on Manuscript ID PVB-6877.R1

Responder A: davetpat@ufrgs.br

24-Mar-2021

Dear Dr. Mendonça:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Equine coital exanthema caused by equid alphaherpesvirus 3: a report of an outbreak in northeastern Brazil" in its current form for publication in the Pesquisa Veterinária Brasileira.

To make the payment, follow the instructions below:

The payment should be made by cash deposit, bank transfer (preferentially identified) or by bank billing.

The corresponding author shall pay a Word Charge of USD\$ 0.10 (R\$ 0.50) per word of the submitted manuscript (except for the reference list) in English.

The publication of up to 4 photos will not be charged. Each additional photo will cost USD 10.00 (R\$ 50.00). Even when the photos are organized in plates, for payment purposes, each photo will count individually.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Pesquisa Veterinária Brasileira, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,

Prof. David Driemeier

Editor-in-Chief, Pesquisa Veterinária Brasileira

davetpat@ufrgs.br