

PRESENÇA DE ANTICORPOS CONTRA O HERPESVIRUS EQUÍNO 1 (HVE-1)  
EM EQUÍNOS DO NOROESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO

E.M.S. Cunha<sup>1</sup>, C.I. de L. Ferrari<sup>2</sup>, M. do C.C.S.H. Lara<sup>1</sup>, L.H.Q. da Silva<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: cunha@biologico.br

RESUMO

A ocorrência de anticorpos contra o HVE-1 foi determinada em amostras de soros coletadas de 1.341 equínos, provenientes de 30 propriedades localizadas na região noroeste do Estado de São Paulo, pertencentes aos Escritórios de Desenvolvimento Rural (EDRs) de Andradina, Araçatuba e General Salgado. Os soros foram submetidos ao teste de soroneutralização e, do total, 365 (27,2%) apresentaram anticorpos específicos contra o HVE-1. Das propriedades testadas somente uma, situada no Município de Penápolis, não apresentou animais reagentes, embora apenas 6 apresentassem histórico de aborto. Os altos índices de anticorpos descritos associados à infecção inaparente de equínos sugerem que a infecção pelo HVE-1 pode ser mais freqüente em criações de equínos do que a que se tem relatado.

PALAVRAS-CHAVE: Herpesvírus equino 1, HVE-1, anticorpo.

ABSTRACT

SEROLOGICAL SURVEY FOR EQUINE HERPESVIRUS 1 (EHV-1) ANTIBODIES IN HORSES FROM THE NORTHWEST OF SÃO PAULO STATE, BRAZIL. The occurrence of EHV-1 antibody-positive horses was determined on serum samples collected from 1,341 animals of 30 farms from the northwest of São Paulo-Brazil. Antibody against EHV-1 was detected by virus neutralization in 365 (27.2%) horses. All farms, except one in Penápolis city, showed positive animals although abortion was just observed in 6 farms. The high antibody level described in association with asymptomatic infected horses suggested that EHV-1 infection can be more frequent than have been reported in Brazil.

KEY WORDS: Equine herpesvirus 1, EHV-1, antibody.

INTRODUÇÃO

Infecções pelo herpesvírus equino tipo 1 (HVE-1) estão associadas a abortos, mortalidade perinatal, doença respiratória e doença neurológica (OSTLUND, 1993; SAXEGAARD, 1996). Os distúrbios reprodutivos levam ao abortamento, no terço final da gestação, de 20 a 40% das éguas do plantel, o que acarreta grandes prejuízos econômicos. O HVE-1 pode ser responsabilizado como o principal agente de infecções clínicas ou subclínicas do trato respiratório. A rinopneumonite se manifesta de forma aguda em animais jovens e, por não apresentar sinais patognomônicos, não pode ser diferenciada clinicamente de outras infecções respiratórias que afetam a espécie equina. Potros recém-nascidos, infectados durante o primeiro ano de vida,

manifestam doença febril e aguda, que pode levar à morte, em razão de infecções secundárias. A infecção pelo HVE-1 pode acarretar, ainda, doença neurológica em equínos com qualquer idade. As manifestações clínicas podem variar desde uma ataxia, uma incontinência urinária e fecal, até uma paraplegia ou quadriplegia (OSTLUND, 1993)

Anteriormente denominava-se HVE-1, subtipo 1, a cepa responsável pelo aborto, mortalidade perinatal e doença neurológica; e HVE-1, subtipo 2, a cepa responsável pela doença respiratória. Estes vírus são, atualmente, denominados HVE-1 e HVE-4, respectivamente (OSTLUND, 1993). O HVE-1 e o HVE-4 têm em comum muitos antígenos; portanto, não podem ser distinguidos pelos métodos sorológicos tradicionais. (OSTLUND, 1993)

<sup>2</sup>Laboratório de Sanidade Animal e Vegetal de Araçatuba do Centro de Ação Regional do Instituto Biológico.

<sup>3</sup>Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Curso de Med. Veterinária/UNESP/Araçatuba

Embora o HVE-4 seja considerado enzoótico em populações de eqüinos nos Estados Unidos, no Japão e na Austrália (WILSON, 1997; MATSUMURA *et al.*, 1992; GILKERSON *et al.*, 1999) não existe nenhum relato algum de sua ocorrência no Brasil.

A infecção pelo HVE-1 é bastante descrita no Japão (MATSUMURA, 1992), Austrália (GILKERSON *et al.*, 1999), Estados Unidos (HONG *et al.*, 1993) e Europa. No Brasil, a ocorrência do aborto eqüino a vírus foi descrita pela primeira vez em 1964 por CORRÊA & NILSSON (1964); no entanto, só em 1966 o vírus foi isolado e identificado (NILSSON & CORRÊA, 1966). Recentemente, o HVE-1 pôde ser isolado e identificado, através da utilização de anticorpos fluorescentes, em amostras de três fetos abortados provenientes de eqüinos do Município de Campinas (KOTAIT *et al.*, 1989) e de um potro de dez dias do Município de Araçarigüama (CUNHA *et al.*, 1993). Na região do Triângulo Mineiro, CARVALHO *et al.* (1991) descreveram a ocorrência de aborto causado pelo HVE-1 em 15 éguas e WEINBLÉN *et al.* (1994) relataram a ocorrência de surto de HVE-1 em propriedades do sul do país. Apesar da ocorrência de abortos em eqüinos ser bastante observada no Brasil, são poucos os estudos que os relacionam aos herpesvírus eqüinos.

À semelhança do que acontece na infecção com outros herpesvírus, o HVE-1 e o HVE-4 provocam infecção latente nos animais infectados (OSTLUND, 1993; EDINTON *et al.*, 1994; WILSON, 1997). Nestes casos, os eqüinos podem permanecer assintomáticos, ou apresentar sinais de infecção quando são submetidos a estresse. Em ambos os casos pode ocorrer a eliminação do vírus, fato este de grande relevância na epidemiologia da doença (WILSON, 1997).

A detecção de anticorpos específicos contra o HVE-1 é um dos métodos de diagnóstico e de estimativa da ocorrência da infecção em criações de eqüinos. KOTAIT *et al.* (1989), utilizando a técnica de soroneutralização em cultivo celular, detectaram 13,5% de positividade em amostras de soro eqüino, provenientes de várias regiões do Estado de São Paulo. MODOLO *et al.* (1989) realizaram a pesquisa de anticorpos, pela técnica de fixação do complemento, em soro de eqüinos, também do Estado de São Paulo, e relataram uma porcentagem de 17,6% de soros reagentes contra o HVE-1.

Os Escritórios de Desenvolvimento Rural (EDRs) de Andradina, Araçatuba e General Salgado, situados na região noroeste do Estado de São Paulo, apresentam uma significativa população eqüina constituída, em grande parte, de animais rústicos, criados com a finalidade de trabalho.

O presente estudo tem como objetivo verificar a ocorrência de anticorpos contra o HVE-1, em eqüinos, não vacinados, de propriedades situadas na região noroeste do Estado de São Paulo.

## MATERIALE MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em 30 propriedades, selecionadas ao acaso, 11 municípios localizados nos EDRs de Andradina, Araçatuba e General Salgado, no ano de 1995. Dos 2.707 eqüinos das propriedades selecionadas, foram escolhidos, também ao acaso, 1.341 animais que representavam de 23 a 100 % dos eqüinos por propriedade e, aproximadamente, 50 % da população total estimada (Tabela 1). Os animais foram identificados segundo sexo, idade e ocorrência de problemas reprodutivos. As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular externa e levadas ao laboratório onde tiveram sua fração sérica separada e conservada a -20 °C, até o momento de sua utilização.

Para a pesquisa de anticorpos neutralizantes contra o HVE-1 foi utilizada a microtécnica de soroneutralização. Os soros foram testados usando-se diluições na base 2, em um volume de 25 µL, frente a igual volume de 100 DICT50 de suspensão viral. Foram testados, ainda, como controle, soro proveniente de eqüino imunizado com o herpesvírus tipo 1 e um soro isento de anticorpos. Após a incubação, por 1 hora a 37°C, foram adicionados 100 µL de uma suspensão de células VERO, contendo 25.000 células, por orifício. A leitura foi realizada após 72 horas de incubação a 37° C, em estufa com 5 % de CO<sub>2</sub>, observando-se a neutralização do efeito citopático.

Tabela 1 – Distribuição da amostra, segundo os municípios, o número de propriedades e a população eqüina analisada, Araçatuba, São Paulo, 2001.

Município	Nº de propriedades investigadas	População eqüina das propriedades	População eqüina analisada (%)
Araçatuba	5	579	258 (44)
Bento de Abreu	3	140	52 (37)
Bilac	1	35	21 (60)
Gabriel Monteiro	1	60	33 (55)
Guararapes	5	570	219 (38)
Lavínia	2	245	98 (40)
Penápolis	2	165	112 (67)
Piacatu	4	164	117 (71)
Rubiácea	2	286	161 (57)
Sud Menucci	2	213	211 (99)
Valparaíso	3	250	59 (23)
TOTAL	30	2.707	1.341 (49)

## RESULTADOS

Dos 1.341 soros testados, 365 (27,2%) apresentaram anticorpos específicos contra o HVE-1. As maiores frequências de animais sororeagentes foram observadas nos municípios de Lavínia (64,3%), Bento de Abreu (48,1%) e Araçatuba (38,8%) (Tabela 2). Entre as 30 propriedades estudadas, seis apresentavam animais com distúrbios reprodutivos, manifestados por abortamentos, e estas situavam-se em Araçatuba, Guararapes, Lavínia, Piacatu e Sud Menucci (Tabela 3). Os índices de positividade encontrados foram: 48,6%, 63% e 58,5% em propriedades situadas nos municípios de Araçatuba, Guararapes e Lavínia, respectivamente; 4,2% e 11,1% em duas propriedades situadas no município de Piacatu; 19,6% em uma propriedade em Sud Menucci (Tabela 3). Das 30 propriedades testadas, apenas uma, situada no Município de Penápolis, não apresentou animais reagentes (Tabela 3). Nas demais, a porcentagem de animais reagentes variou de 4,2%, em uma propriedade situada no município de Piacatu, a 71,4%, em uma propriedade situada no município de Araçatuba (Tabela 3).

## DISCUSSÃO

A presença de anticorpos neutralizantes contra o HVE-1 no soro de equinos não vacinados, relatados no presente trabalho, demonstra que estes animais foram infectados pelo vírus. O percentual de equinos sorologicamente positivos ao HVE-1 de 27,2%, foi superior àqueles obtidos por KOTAIT *et al.* (1989) e MODOLO *et al.* (1989) que observaram, em levantamentos realizados no Estado de São Paulo, porcentagens de 13,5% (159/1178) e 17,6% (44/250) de soros reagentes contra o HVE-1, respectivamente. Em pesquisa realizada com 348 equinos de 10 municípios do Rio Grande do Sul foi detectada a presença de anticorpos anti-HVE-1 em 84,7% (295/348) das amostras analisadas (VARGAS & WEIBLEN, 1991). Todos os municípios estudados apresentaram animais soro-reagentes, com índices que variavam de 2,7% no município de Penápolis a 64,3% em Lavínia (Tabela 2). Apesar da quase totalidade das propriedades apresentarem animais sororeagentes, muitas vezes com porcentagens superiores a 30%, apenas em seis (20%) havia histórico de abortamento, o que pode estar relacionado ao fato da doença, muitas vezes, apresentar-se de maneira sub-clínica (SUGIURA *et al.*, 1988). Deve-se considerar ainda que os métodos sorológicos, entre eles a soroneutralização, não permitem distinguir infecções pelo HVE-1 e o HVE-4, e que este último raramente provoca abortamentos (OSTLUND, 1993). Os resultados mostram ainda que, entre as proprie-

Tabela 2 - Distribuição da frequência de soros reagentes para o HVE-1, segundo Município da região de Araçatuba, São Paulo, 2001.

Município	Reagentes (%)	Não reagentes (%)
Araçatuba	100 (38,8)	158 (61,2)
Bento de Abreu	25 (48,1)	27 (51,9)
Bilac	2 (9,5)	19 (90,5)
Gabriel Monteiro	5 (15,1)	28 (84,9)
Guararapes	70 (32,0)	149 (68,0)
Lavínia	63 (64,3)	35 (35,7)
Penápolis	3 (2,7)	109 (97,3)
Piacatu	21 (17,9)	96 (82,1)
Rubiácea	23 (14,3)	138 (85,7)
Sud Menucci	38 (18,0)	173 (82,0)
Valparaíso	15 (25,4)	44 (74,6)
TOTAL	365 (27,2)	976 (72,8)

dades com casos de aborto, as porcentagens de animais sororeagentes eram variáveis, sendo que em três os valores obtidos foram menores que o índice obtido para a região (27,2%). Vários agentes podem causar distúrbios reprodutivos em equinos, entre eles bactérias, fungos e vírus. Assim, a ocorrência de problemas reprodutivos nas propriedades com baixos índices de positividade para o HVE-1 pode estar associada à ocorrência simultânea de outras enfermidades, relacionadas à reprodução. GENOVEZ *et al.* (1995) relataram em inquérito sorológico, realizado com a mesma amostragem, uma prevalência de 31,2% para vários sorovares de leptospiros. Estes achados sugerem que o diagnóstico diferencial deve ser realizado.

Estudos para avaliação da causa de abortamentos realizados por HONG *et al.* (1993), no Kentucky (EUA), mostraram que entre fetos abortados e natimortos o HVE-1 era responsável por 3,3% das perdas. GILES *et al.* (1993) relataram, entre várias patologias causadoras de distúrbios reprodutivos, uma porcentagem de 4% devida ao herpesvírus equino. Os relatos clínicos de abortamentos e de animais natimortos em criações de equinos do Estado de São Paulo são bastante comuns, embora sejam poucos os dados de isolamento do vírus em materiais com suspeita clínica (NILSSON & CORRÊA, 1966; CARVALHO *et al.*, 1991; CUNHA *et al.*, 1993; WEIBLEIN *et al.*, 1994).

A habilidade em provocar infecção latente, levando à reinfecções de animais já contaminados e à infecção primária de animais introduzidos na propriedade, associada aos altos índices de anticorpos relatados neste estudo indicam que o vírus do aborto

Tabela 3 – Distribuição da frequência de soros reagentes para o HVE-1, segundo as propriedades e os municípios da região de Araçatuba, São Paulo, 2001.

Propriedade	Município	Reagentes (%)	Não reagentes (%)	Total
01*	Araçatuba	18 (48,6)	19 (51,4)	37
02	Araçatuba	25 (50)	25 (50)	50
03	Araçatuba	15 (31,2)	33 (68,8)	48
04	Araçatuba	27 (26,5)	75 (73,5)	102
05	Araçatuba	15 (71,4)	6 (28,6)	21
06	Bento de Abreu	6 (54,5)	5 (45,5)	11
07	Bento de Abreu	12 (40,0)	18 (60,0)	30
08	Bento de Abreu	07 (63,6)	4 (36,4)	11
09	Bilac	2 (9,5)	19 (90,5)	21
10	Gabriel Monteiro	5 (15,2)	28 (84,8)	33
11*	Guararapes	17 (63,0)	10 (37,0)	27
12	Guararapes	17 (21,8)	61 (78,2)	78
13	Guararapes	9 (29,0)	22 (71,0)	31
14	Guararapes	16 (37,2)	27 (62,8)	43
15	Guararapes	11 (27,5)	29 (72,5)	40
16*	Lavinia	31 (58,5)	22 (41,5)	53
17	Lavinia	32 (71,1)	13 (28,9)	45
18	Penápolis	3 (5,2)	55 (94,2)	58
19	Penápolis	-	54 (100,0)	54
20*	Piacatu	1 (4,2)	23 (95,8)	24
21*	Piacatu	1 (11,1)	8 (88,9)	9
22	Piacatu	6 (11,1)	48 (88,9)	54
23	Piacatu	13 (43,3)	17 (56,7)	30
24	Rubiácea	4 (7,8)	47 (92,2)	51
25	Rubiácea	19 (17,2)	101 (91,8)	110
26*	Sud Menucci	31 (19,6)	127 (80,4)	158
27	Sud Menucci	7 (13,2)	46 (86,8)	53
28	Valparaíso	6 (20,0)	24 (80,0)	30
29	Valparaíso	2 (25,0)	6 (75,0)	8
30	Valparaíso	7 (33,4)	14 (66,6)	21

\*Propriedades que apresentavam animais com distúrbios reprodutivos manifestados por abortamento

equino pode ocorrer de maneira mais freqüente do que se tem relatado. Assim, a investigação da doença, bem como medidas para o seu controle na população equina do Estado, devem ser incrementadas para que sua ocorrência e as perdas por ela causadas sejam melhor estimadas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORRÊA, W.M. & NILSSON, M.R. Observações preliminares sobre o aborto equino a vírus no Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, v.33, n.3, p.13-55, 1964.
- CUNHA, E.M.S.; PEIXOTO, Z.M.P.; KROEFF, S.S.; QUEIROZ, L.H.; KOTAIT, I. Isolamento e identificação do herpesvírus equino tipo 1(EHV-1): confirmação do diagnóstico clínico. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 6., 1993, São Paulo, SP. *Resumos*. p. 15.
- EDINGTON, N.; WELCH, H.M.; GRIFFITHS, L. The prevalence of latent equid herpesvirus in tissues of 40 abattoir horses. *Equine Vet. J.*, v.26, p.140, 1994.
- GENOVEZ, M.E.; FERRARI, C.I.L.; SCARCELLI, E.; CARRASCO, S.; MAZIERO, D.S.; TORRES, A. Inquérito sorológico para leptospiriose em equinos de trabalho da região de
- CARVALHO, F.S.R.; COELHO, H.E.; BEDAQUE, M. Aborto equino por Herpesvirus equi 1. *Rev. Ciências Biom.*, Univ. Fed. Uberlândia, v.7, n.1, p.45-47., 1991.

- Araçatuba, SP. *Arq. Inst. Biol.*, v.62, n.1/2, p.1-6, 1995.
- GILES, R.C.; DONAHUE, J.M.; HONG, C.B.; TUTTLE, P.A.; PETRITES-MURPHY, M.B.; POONACHA, K.B.; ROBERTS, A.W.; TRAMONTIN, R. R.; SMITH, B.; SWERCZEK, T. W. Causes of abortion, stillbirth, and perinatal death in horses; 3,527 (1986-1991). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.203, n.8, p.1170-1175, 1993.
- GILKERSON, J.R.; WHALLEY, J.M.; DRUMMER, H.E.; STUDDERR, M.J.; LOVE, D.N. Epidemiology of EHV-1 and EHV-4 in the mare and foal populations on a Hunter Valley stud farm: are mares the source of EHV-1 for unweaned foals. *Vet. Microbiol.*, v.68, p.27-34, 1999.
- HONG, C.B.; DONAHUE, J.M.; GILES, R.C.J.R.; PETRITES-MURPHY, M.B.; POONACHA, K.B.; ROBERTS, A.W.; SMITH, B.J.; TRAMONTIN, R.R.; TUTTLE, P.A.; SWERCZEK, T.W. Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and 1989 foaling seasons. *J. Vet. Diag. Invest.*, v.5, n.4, p.560-566, 1993.
- KOTAIT, I.; PEIXOTO, Z.M.P.; QUEIROZ, L.H.; CUNHA, E.M.S.; SOUZA, M. C. A. M.; MACRUZ, R.; FREITAS, C. A. Diagnóstico laboratorial do aborto eqüino a vírus através de imunofluorescência e soroneutralização. *Rev. Microbiol.*, v.20, n. 1, p.128-132, 1989.
- MATSUMURA, T.; SUGIURA, T.; IMAGAWA, H.; FUKUNAGA, Y.; KAMADA, M. Epizootiological aspect of type 1 and 4 equine herpesvirus infections among horse populations. *J. Vet. Med. Sci.*, v.54, n.2, p.207-211, 1992.
- MODOLO, J.R.; PETZOLDT, K.; GOTTS-CHALK, A.F.; MARGATHO, L.F.F.; FORLIN, W.; CARREIRA, E.L.C. Investigação sorológica do Herpesvirus equi-1 em eqüinos pelo teste de fixação do complemento, considerações sobre seu uso na saúde do haras. *Hora Veterinária*, v.8, n.48, p.25-27, 1989.
- NILSSON, M.R. & CORRÊA, W.M. Isolamento do vírus do aborto eqüino no Estado de São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, v.33, n.2, p.23-25, 1966.
- OSTLUND, E.N. The equine herpesviruses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v.9, n.2, p.283-294, 1993.
- SAXEGAARD, F. Isolation and identification of equine rhinopneumonitis virus (equine abortion virus) from causes of abortion and paralysis. *Nord. Vet. Med.*, v.18, p.504, 1966.
- SUGIURA T.; MATSUMURA T.; HIRANO, S. Field surveillance of Equine Herpesvirus type 1 infection in racehorses by agar gel immunodiffusion test. *Bull. Equine Res. Inst.*, v.25, p.15-19, 1988.
- VARGAS, A.P.C. & WEIBLEIN, R. Prevalência de anticorpos contra o herpesvírus eqüino tipo 1 (EHV-1) em eqüinos de alguns municípios do Estado do Rio Grande do Sul. *Hora Veterinária*, v.10, n.59, p.5-8, 1991.
- WEIBLEIN, R., RABUSKE, M.; REBELATTO, M.C.; NOBRE, V.M.T. Abortion due to equine herpesvirus in southern Brazil. *Brasílian J. Med. Biol. Res.*, v.27, p.1317-1320, 1994.
- WILSON, D.W. Equine herpesvirus 1 myeloencephalopathy. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v.20, p.53-72, 1997.

Recebido em 30/7/01

Aceito em 10/12/01