

Achados clínicos e patológicos em cães infectados naturalmente por herpesvírus canino¹

Eduardo C. Oliveira², Luciana Sonne², Pedro S. Bezerra Júnior², Elisa M. Teixeira², Renata Dezengrini³, Saulo P. Pavarini², Eduardo F. Flores³ e David Driemeier^{2*}

ABSTRACT.- Oliveira E.C., Sonne L., Bezerra Júnior P.S., Teixeira E.M., Dezengrini R., Pavarini S.P., Flores E.F. & Driemeier D. 2009. [Clinic and pathological findings in dogs naturally infected with canine herpesvirus.] Achados clínicos e patológicos em cães infectados naturalmente por herpesvírus canino. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29(8):637-642. Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. E-mail: davetpat@ufrgs.br

The clinic and pathological findings and laboratorial testing of puppies with postmortem diagnosis of canine herpesvirus infection are described. The cases occurred in two households of Porto Alegre, RS, in April 2007 and July 2008. The puppies presented anorexia, depression, cry and dyspnea, followed by death about 24-72 hours after the onset of clinical signs. At necropsy multifocal pin point hemorrhages were observed in the kidneys. The liver was enlarged with petechiae and white foci on the surface. The lungs were red and did not collapse. The spleen was enlarged and, in some cases, with petechiae on the capsular surface. Mesenteric lymph nodes and thymus were enlarged. Microscopic lesions included hemorrhages and multifocal necrosis of the renal tubular epithelial cells, hepatocytes and lymphoid tissues. In the lungs there was severe multifocal alveolar necrosis with abundant fibrin deposits and a mixed inflammatory infiltrate of variable intensity. Intranuclear inclusion bodies were identified in the periphery of necrotic areas in hepatocytes, renal tubular epithelial cells and alveolar cells. Samples of liver, kidney and lung were positive in the direct immunofluorescence test for canine herpes virus type 1 (CHV-1). The diagnosis was based on epidemiological data, necropsy findings, histological lesions and positive immunofluorescence results using CHV-1 antibody in tissue samples. To our knowledge, this is the first report of the identification of CHV-1 in Brazil, although previous clinic and pathological findings already suggested the presence of the virus in Brazilian canine population.

INDEX TERMS: Diseases of dogs, canine herpesvirus, hemorrhage, hepatic necrosis.

RESUMO.- Descrevem-se os achados clínicos e patológicos e os exames laboratoriais de filhotes de cães com diagnóstico *post mortem* de infecção por herpesvírus canino. Os casos ocorreram em duas propriedades da Ci-

dade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, em abril de 2007 e julho de 2008. Clinicamente, os cães apresentaram anorexia, apatia, choro e dispneia. A morte dos cães ocorreu após 24-72 horas do início dos sinais clínicos. Na necropsia observaram-se hemorragia multifocal renal e hepatomegalia com petéquias e pontos brancos na superfície natural do fígado. Os pulmões se apresentaram não-colapsados e vermelhos. Havia esplenomegalia e, em alguns cães, petéquias na superfície capsular do baço. Aumento dos linfonodos mesentéricos e do timo foi observado. Lesões microscópicas incluíram hemorragia e necrose multifocal em células epiteliais tubulares renais, hepatócitos e tecidos linfóides. Nos pulmões, havia ne-

¹ Recebido em 9 de fevereiro de 2009.

Aceito para publicação em 16 de março de 2009.

² Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brasil. *Autor para correspondência: davetpat@ufrgs.br

³ Laboratório de Virologia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

crose alveolar multifocal acentuada com abundante material fibrinoso e infiltrado inflamatório misto de intensidade variada. Ocasionais corpúsculos de inclusão intranucleares em áreas periféricas à necrose foram identificados em hepatócitos, células epiteliais de túbulos renais e células alveolares. Amostras de fígado, rim e pulmão foram positivas na imunofluorescência direta para herpesvírus canino tipo 1 (CHV-1). O diagnóstico de infecção por herpesvírus foi baseado nos achados de necropsia, histológicos e de imunofluorescência positiva em tecidos usando anticorpo anti-CHV-1. De nosso conhecimento, este é o primeiro relato da identificação do CHV-1 no Brasil, embora achados clínico-patológicos anteriores já sugerissem a presença do agente na população canina do país.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças de cães, herpesvírus canino, hemorragia, necrose hepática.

INTRODUÇÃO

Herpesvírus canino tipo 1 (CHV-1) foi originalmente isolado em 1964 como um agente fatal de cães neonatos (Carmichael et al. 1965). A infecção provoca lesões sistêmicas, caracterizadas por necrose e hemorragia em cães com menos de três semanas de idade (Cornwell et al. 1969, Hashimoto et al. 1978). A transmissão aos filhotes pode ocorrer durante a passagem destes pelo canal do parto, pela via transplacentária ou pelas secreções oronasais da fêmea (Hashimoto et al. 1983, Ardans 2004). Em cães adultos, o CHV-1 ocasiona balanopostite em machos (Foster 2007) e pode provocar infertilidade, abortamento, natimortalidade e vulvovaginite em fêmeas (Hill & Maré 1974, Hashimoto et al. 1983, Smith 1997). Também foi descrita a presença do CHV-1 como agente etiológico de quadros respiratórios, associado a casos de rinite, faringite e traqueobronquite (Appel et al. 1969, Huxsoll & Hemelt 1970, Buonavoglia & Martella 2007).

Como importante característica do CHV-1, está o fato de esse apresentar-se em estado de latência, podendo ser ativado em casos de queda de imunidade, provocados por fatores de estresse, gestação, doenças prévias ou pela administração de corticosteroides (Okuda et al. 1993, Ronsse et al. 2004). Manifestações clínicas são esporádicas, porém a porcentagem de animais soropositivos na população canina é alta. Alguns trabalhos apontam uma prevalência de CHV-1 maior que 40% em determinadas populações (Rijsewijk et al. 1999, Ronsse et al. 2002). Em neonatos, o grave quadro clínico é atribuído a menor temperatura corporal dos caninos nesta faixa etária (Carmichael et al. 1969), sistema imunológico imaturo (Carmichael & Greene 2006) e a falta de anticorpos maternos transmitidos pelo colostro (Galosi 2007).

Diferentes relatos (Schwartz & Martin 1966, Huxtable & Farrow 1970, Nairn & Smith 1971, Watt et al. 1974, Love & Huxtable 1976, Hashimoto et al. 1978) e estudos experimentais foram publicados sobre a infecção neonatal de CHV-1 (Carmichael et al. 1965, Hashimoto et al. 1982).

Porém, a infecção neonatal por herpesvírus canino é pouco descrita no Brasil (Wouters et al. 2001).

O presente trabalho tem como objetivo descrever os sinais clínicos, os achados patológicos e os métodos de diagnóstico utilizados para a confirmação da infecção em duas ninhadas de cães pelo CHV-1. Embora relatos clínicos e patológicos anteriores já sugerissem a presença do agente na população canina do Brasil, este é o primeiro relato com identificação do agente no país.

MATERIAL E MÉTODOS

Onze cães de duas ninhadas, uma da raça Labrador (nove filhotes) e outra da raça Chow-Chow (dois filhotes), compostas de oito machos e três fêmeas, com idade de 10-20 dias, foram encaminhadas ao Setor de Patologia Veterinária (SPV) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) para realização de exame de necropsia. Os históricos clínicos dos filhotes e das cadelas foram obtidos junto aos proprietários e aos médicos veterinários responsáveis pelos casos. Alterações patológicas, observadas durante o exame de necropsia, foram identificadas e registradas. Coletou-se fragmentos de pulmões, fígado, rins, coração, adrenais, estômago, bexiga, linfonodos mesentéricos, baço, timo, medula óssea e encéfalo em solução de formalina tamponada. Posteriormente, realizou-se o processamento do material pelas técnicas histológicas de rotina e coloração dos cortes histológicos com hematoxilina e eosina (HE). Coletou-se pulmão e fígado de dois cães de cada ninhada para realização de cultivo bacteriano aeróbio. Amostras resfriadas de rim, fígado, baço e pulmão foram enviadas ao Laboratório de Virologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) de quatro cães da raça Labrador e de dois cães Chow-Chow. Nesse laboratório, o material foi submetido a tentativas de isolamento viral em cultivo celular em células CRFK (*Crandel feline kidney cells*) e à imunofluorescência direta (IFD) para o CHV-1. Para o isolamento, fragmentos dos tecidos foram macerados com areia estéril, ressuspensos em meio de cultivo e centrifugados. Os sobrenadantes foram inoculados em tapetes de células CRFK e submetidos a três passagens de 4 dias cada, antes de serem considerados negativos para vírus. A IFD foi realizada em impressões dos tecidos sob lâminas de microscopia, fixadas em acetona gelada (por 5 min), e incubadas com um anticorpo policlonal anti-CHV-1 conjugado com fluoresceína (VMRD Inc., P.O. Box 502, Pullman, WA, USA). As lâminas foram observadas em um microscópio de luz ultravioleta. As temperaturas máxima, mínima, média da máxima e média da mínima da Cidade de Porto Alegre, RS foram obtidas durante o período do nascimento dos cães até o início dos sinais clínicos através de consulta ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET 2008).

RESULTADOS

Os cães afetados eram da raça Labrador, filhos de uma cadela de dois anos de idade, de primeira cria, nascidos em 21 de abril de 2007. Durante o parto nenhuma alteração foi observada. Após o nascimento, os cães ingeriram o colostro e nenhuma anormalidade foi identificada pela proprietária. Do parto até o início dos sinais clínicos, a cadela e os nove filhotes foram mantidos no canil. Os sinais clínicos iniciaram aos oito dias de idade, em dois

filhotes. Esses cães apresentaram inicialmente apatia, choro persistente e anorexia. Posteriormente, esses cães apresentaram intensa dispnéia, letargia e morte em 48 horas após o início dos sinais clínicos. Nos sete outros filhotes desta ninhada, os mesmos sinais foram identificados progressivamente, resultando em morte de todos os cães em 24-72 horas após o início dos sinais clínicos, morrendo o último cão aos 17 dias de idade. Em dois filhotes, convulsões foram relatadas pelo médico veterinário responsável pelo caso. As temperaturas máxima e mínima registradas na Cidade de Porto Alegre foram de 31°C (média da máxima=27°C) e de 6°C (média da mínima = 14,6°C), respectivamente, no período do nascimento até o início dos sinais clínicos (21-28 de abril de 2007).

Os dois cães da raça Chow-Chow eram provenientes de uma ninhada de cinco cães, nascidos em 3 de julho de 2008, de uma segunda cria de uma cadela de três anos de idade. Nenhuma alteração foi observada no parto e nos primeiros dezessete dias de vida; os filhotes foram

criados no pátio da casa. Sinais clínicos iniciaram aos dezoito dias de idade em três cães, estes apresentaram grave dispnéia, apatia e anorexia e morreram após 48 horas do início dos sinais clínicos. Os outros dois cães apresentaram, aos 22 dias de idade, sinais respiratórios brandos e se recuperaram após uma semana. No período do nascimento (3 de julho de 2008) até o início dos sinais clínicos (20 de julho de 2008) as temperaturas máxima e mínima registradas na Cidade de Porto Alegre foram de 31°C (média da máxima = 23,6°C) e 6°C (média da mínima = 10,8°C), respectivamente.

No exame dos cadáveres observou-se as mucosas oculares e oral com discreta palidez (5/11 cães). Nos rins, se visualizou hemorragia multifocal no córtex (9/11) (Fig.1) e na junção córtico-medular (2/11). A avaliação hepática revelou hepatomegalia (7/11), áreas pálidas no parênquima (6/11), variada quantidade de petéquias (5/11) (Fig.2) e inúmeros pontos brancos na superfície (4/11). Identificou-se esplenomegalia moderada a acentuada (9/11), inú-



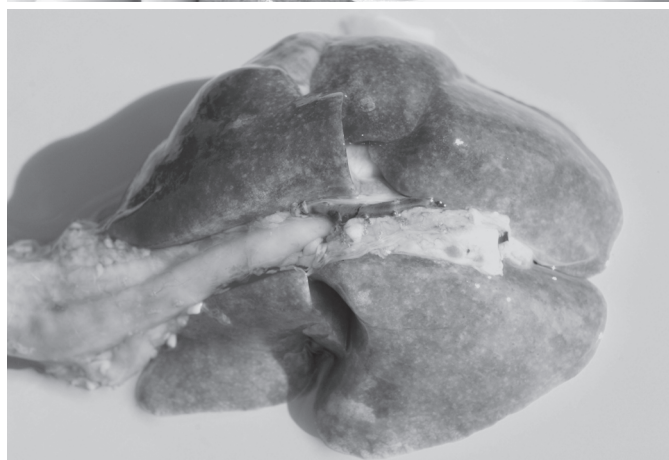
1



2



3



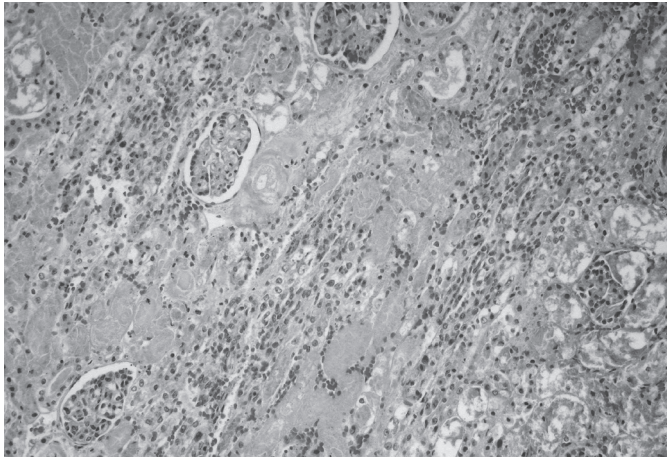
4

Fig.1. Típico aspecto dos rins de um cão com síndrome hemorrágica dos filhotes induzida naturalmente por herpesvírus canino tipo 1. Observe os múltiplos focos hemorrágicos na superfície capsular.

Fig.3. Múltiplos focos hemorrágicos na superfície capsular de um baço aumentado de volume em um cão infectado naturalmente por herpesvírus canino tipo 1.

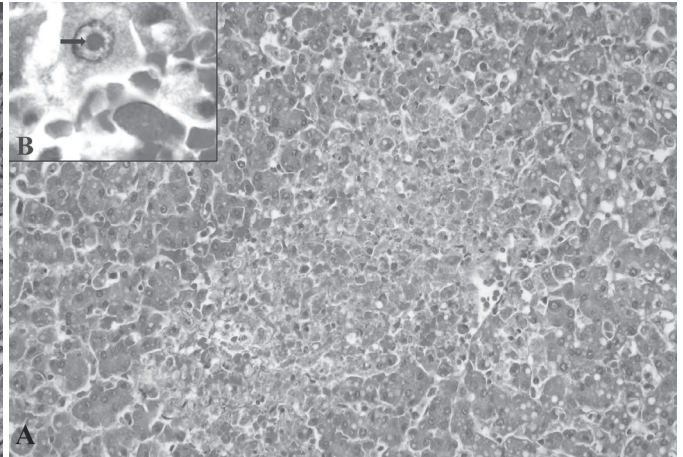
Fig.2. Fígado pálido e com petéquias na superfície capsular em um cão infectado naturalmente por herpesvírus canino tipo 1.

Fig.4. Pulmões de um cão infectado naturalmente por herpesvírus canino tipo 1. O parênquima é não-colapsado, vermelho e apresenta numerosos pontos brancos na superfície pleural.



5

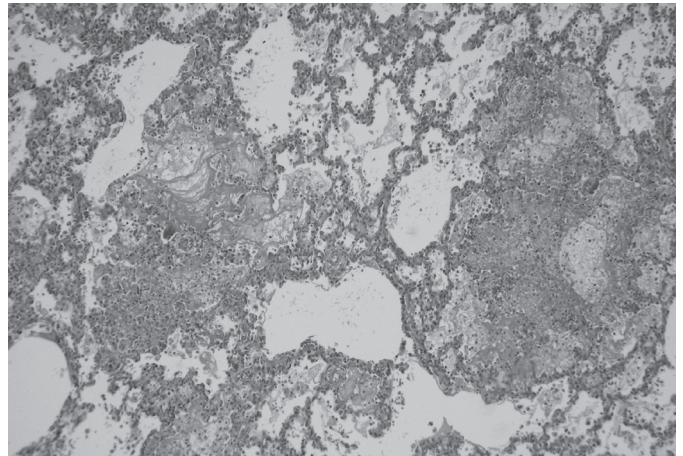
Fig.5. Extensa área de necrose associada à discreta hemorragia no rim. HE, obj.20x.



6

Fig.6. (A) Foco necrótico e discreta vacuolização citoplasmática de hepatócitos adjacentes no fígado. HE, obj.40x. (B) Corpúsculo de inclusão intranuclear (seta) no interior de hepatócito. HE, obj.100x.

Fig.7. Pneumonia fibrinonecrótica multifocal. HE, obj.10x.



7

meras petéquias na superfície esplênica (5/11) (Fig.3) e áreas escuras intercaladas por áreas mais claras na superfície do órgão (2/11). Um discreto aumento do volume dos linfonodos mesentéricos (8/11) foi visualizado. Na abertura da cavidade torácica, os pulmões se apresentaram não-colapsados, preenchendo grande parte do tórax (11/11). Ao toque, os pulmões (Fig.4) se encontravam firmes (11/11), vermelhos (9/11) e na superfície pleural havia pontos brancos (5/11) e petéquias (3/11). Aumento discreto do timo foi visualizado (6/11) em associação a algumas petéquias e equimoses (5/11).

Necrose de coagulação multifocal acentuada (11/11) foi observada em células epiteliais tubulares do rim (Fig.5). Nestas áreas necróticas, identificou-se hemorragia na cortical (9/11) e junção córtico-medular (2/11). Em grande parte dos casos nenhuma reação inflamatória foi identificada nas áreas adjacentes da necrose. Em dois casos nefrite intersticial mononuclear discreta foi identificada junto à área de necrose. Pequenos focos multifocais de necrose com distribuição aleatória foram observados no parênquima hepático (11/11) (Fig.6). No fígado, havia ainda congestão (9/11), hemorragia (7/11), vasculite mononuclear (4/11), vacuolização de hepatócitos (3/11) e hepatite portal mononuclear ou mista (2/11). Nos pulmões, havia pneumonia fibrinonecrótica multifocal acentuada (Fig.7) em todos os cães e focos de hemorragia em alguns (4/11). Adjacente às áreas necróticas, observou-se inflamação de intensidade variada, caracterizada por infiltrado misto com predomínio de macrófagos ou infiltrado mononuclear discreto representado por macrófagos e linfócitos. Necrose linfóide (10/11), hemorragia (9/11) e congestão (4/11) foram observadas no baço. Nos linfonodos

mesentéricos, visualizou-se necrose linfóide e/ou perda da estrutura folicular (9/11), hiperplasia folicular (4/11), congestão (4/11) e eritrofagocitose (3/11). No timo, visualizaram-se hiperplasia linfóide (7/11), congestão (5/

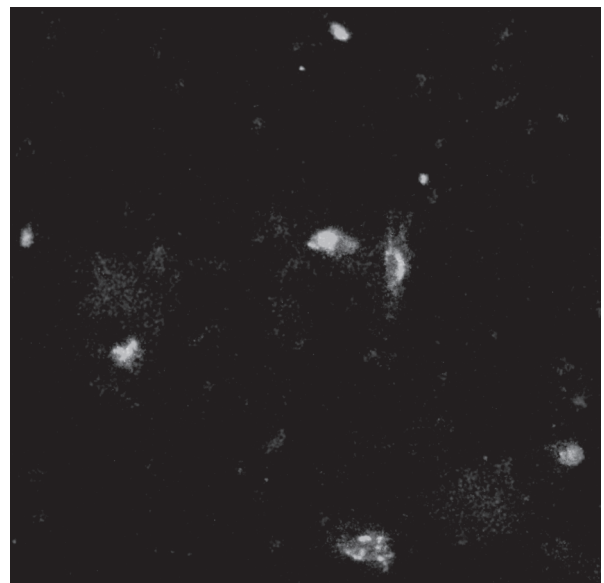


Fig.8. Impressão do fígado. Células positivas para antígenos virais (herpesvírus canino tipo 1) coradas em verde. Imunofluorescência direta, obj.10x.

11) e focos de hemorragia (5/11). No sistema nervoso central, observou-se mielite focal mononuclear (2/11), vasculite multifocal mononuclear no cérebro (2/11), encefalite focal mononuclear (1/11) e hemorragia focal (1/11). Focos necróticos na região medular da adrenal foram identificados em um cão. Raros corpúsculos de inclusão intranucleares de difícil localização foram visualizados na periferia de tecidos necróticos. Estes foram encontrados em hepatócitos (Fig.6) (5/11), células epiteliais de túbulos renais (4/11) e células alveolares (1/11).

Obteve-se resultado positivo na IFD para antígenos do CHV-1 nas seis amostras de tecido testadas. Células isoladas ou em pequenos focos (3-5 células) positivas para antígenos virais foram identificadas no baço e fígado (Fig.8). As tentativas de isolamento viral em células CRFK, no entanto, resultaram infrutíferas. O cultivo bacteriano aeróbio, de amostras obtidas do pulmão e fígado não apresentou crescimento.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de infecção por herpesvírus canino (CHV-1) foi baseado nos achados macroscópicos identificados na necropsia, na observação de lesões histológicas características com inclusões intranucleares em tecidos e pela confirmação do agente através da imunofluorescência direta (IFD) com conjugado específico. As descrições dos casos são semelhantes a outros relatos de infecção pelo CHV-1 em cães com menos de três semanas de idade (Carmichael et al. 1965, Watt et al. 1974, Kojima et al. 1989). Uma alta taxa de morbidade e mortalidade em cães jovens também foi identificada em outros estudos (Love & Huxtable 1976, Wouters et al. 2001). Isto demonstra a gravidade do quadro clínico e a possibilidade de transmissão a todos os cães da ninhada.

A menor temperatura corporal dos cães neonatos (cerca de 1-1,5°C mais baixa) é atribuída como fator predisponente de uma infecção fatal pelo CHV-1 (Carmichael et al. 1969). Esta observação é baseada na identificação da ótima temperatura de replicação do vírus (35-37°C) em cultivo celular (Carmichael et al. 1969). Em nossa observação, a temperatura externa também pode ter contribuído no desenvolvimento da infecção, pois condições climáticas e o local de alojamento favoreceram a uma menor temperatura corporal dos neonatos. Porém, em outro relato, a infecção foi diagnosticada em cães neonatos mantidos na temperatura ambiental de 39°C (Love & Huxtable 1976). Entretanto, a temperatura não é o único fator que pode favorecer a infecção. A imunidade transmitida pela mãe, através do colostro, também é um fator importante na patogenia da infecção pelo CHV-1 em neonatos (Carmichael & Greene 2006). Na presença de mães soronegativas, fêmeas infectadas que não produzem anticorpos, os filhotes provenientes destas cadelas tendem a ter sinais clínicos mais graves (Carmichael & Greene 2006, Galosi 2007). Outro fator, que contribui para uma grave infecção sistêmica, está relacionado à imaturidade do sistema imunológico de cães com poucas sema-

nas de vida (Carmichael & Greene 2006). Nestes dois surtos, após a morte dos cães, os proprietários optaram por castrar as duas fêmeas como medida preventiva da transmissão do CHV-1 através da reprodução ou de futuras perdas da ninhada pela infecção.

Hemorragias podem ser identificadas no rim, pulmão, fígado, baço, estômago, intestino e timo de cães infectados pelo CHV-1 (Kojima et al. 1989, Wouters et al. 2001). Esta alteração é observada pela ocorrência de vasculite e a pela trombocitopenia (Carmichael & Greene 2006). Entre os locais anatômicos, a hemorragia do córtex renal tem sido descrita como a mais característica nas infecções por CHV-1 em neonatos (Cornwell & Wright 1969).

A visualização de corpúsculos de inclusão intranuclear se apresentou de difícil localização e com baixo número de observações. Este achado foi descrito por outros autores (Schwartz & Martin 1966, Love & Huxtable 1976, Wouters et al. 2001), assim como a ausência de corpúsculos de inclusão intranuclear também foi relatada (Huxtable & Farrow 1970). Frequentemente os corpúsculos de inclusão intranucleares podem estar ausentes, mesmo na ocorrência de severas lesões histológicas (Cornwell & Wright 1969).

Neste estudo, a identificação de lesões neurológicas teve baixa ocorrência e baixa intensidade. Estes resultados podem estar relacionados ao rápido desenvolvimento e gravidade das lesões identificadas em outros órgãos. Nesses casos, ocorre a morte do cão antes de ocorrer lesões no sistema nervoso central (Carmichael & Greene 2006). Focos de necrose da adrenal, como visto em um dos cães deste relato, raramente são descritos em neonatos acometidos pelo CHV-1 (Carmichael et al. 1965).

CONCLUSÕES

Pelos resultados apresentados, conclui-se que as lesões vistas nestes filhotes de cães foram provocadas pela infecção neonatal pelo CHV-1, que provocou a morte em um curto período de tempo, caracterizando-se por uma alta taxa de morbidade e mortalidade.

A confirmação laboratorial da identidade do agente (através da IFD) demonstra a presença e circulação do vírus na população canina do país e pode indicar a necessidade da adoção de medidas profiláticas, incluindo a vacinação.

Agradecimentos.- Aos demais membros do SPV-UFRGS, pelo auxílio técnico, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Appel M.J.G., Menegus M., Parsonson I.M. & Carmichael L.E. 1969. Pathogenesis of canine herpesvirus in specific-pathogen-free dogs: 5 to 12-week-old pups. *Aust. Vet. J.* 30:2067-2073.
- Ardans A.A. 2004. Herpesviridae, p.320-332. In: Hirsh D.C., MacLachlan N.J. & Walker R.L. (Eds), *Veterinary Microbiology*. 2nd ed. Blackwell, Ames.
- Buonavoglia C. & Martella V. 2007. Canine respiratory viruses. *Vet. Res.* 38:355-373.

- Carmichael L.E. & Greene C.E. 2006. Canine herpesvirus, p.47-53. In: Greene C.E. (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 2nd ed. W.B. Saunders Elsevier, Philadelphia.
- Carmichael L.E., Barnes F.D. & Percy D.H. 1969. Temperature as a factor in resistance of young puppies to canine herpesvirus. *J. Infect. Dis.* 120:669-678.
- Carmichael L.E., Squire R.A. & Krook L. 1965. Clinical and pathologic features of a fatal viral disease of newborn pups. *Am. J. Vet. Res.* 26:803-814.
- Cornwell H.J.C. & Wright N.G. 1969. Neonatal canine herpesvirus infection: A review of present knowledge. *Vet. Rec.* 84:2-6.
- Cornwell H.J.C., Wright N.G., Campbell R.S.F. & Roberts R.J. 1969. Neonatal disease in the dog associated with a herpes-like virus. *Vet. Rec.* 79:661-662.
- Foster R.A. 2007. Male reproductive system, p.1317-1348. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (Eds), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th ed. Mosby Elsevier, St Louis.
- Galosi C.M. 2007. Herpesvirus canino 1: Agente etiológico y enfermedad. *Analecta Vet.* 27:5-12.
- Hashimoto A., Hirai K., Miyoshi A., Shimakura S., Yagami K., Kato N., Kunihiro K., Fujiura A., Kitazawa K., Okada K. & Fujimoto Y. 1978. Naturally occurring canine herpesvirus infection in Japan. *Jpn. J. Vet. Sci.* 40:157-169.
- Hashimoto A., Hirai K., Suzuki Y. & Fujimoto Y. 1983. Experimental transplacental transmission of canine herpesvirus in pregnant bitches during the second trimester of gestation. *Am. J. Vet. Res.* 44:610-614.
- Hashimoto A., Hirai K., Yamaguchi T. & Fujimoto Y. 1982. Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus. *Am. J. Vet. Res.* 43:844-850.
- Hill H. & Maré C.J. 1974. Genital disease in dogs caused by canine herpesvirus. *Aust. Vet. J.* 35:669-672.
- Huxsoll D.L. & Hemelt I.E. 1970. Clinical observations of canine herpesvirus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 156:1706-1713.
- Huxtable C.R. & Farrow B.R.H. 1970. Canine herpesvirus as a suspected cause of neonatal mortality in puppies. *Aust. Vet. J.* 46:344-355.
- INMET (Instituto Nacional de Meteorologia). 2008. Mapas de condições registradas. <http://www.inmet.gov.br/html/clima.php#>. Consultado em 4.11.2008.
- Kojima A., Fujinami F., Takeshita M., Minato Y., Yamamura T., Imaizumi K. & Okaniwa Y. 1989. Outbreak of neonatal canine herpesvirus infection in a specific pathogen-free beagle colony. *Jpn. J. Vet. Sci.* 52:145-154.
- Love D.N. & Huxtable C.R.R. 1976. Naturally-occurring neonatal canine herpesvirus infection. *Vet. Rec.* 99:501-503.
- Nairn M.E. & Smith V.W. 1971. Canine herpesvirus from a pup in Western Australia. *Aust. Vet. J.* 47:463.
- Okuda Y., Ishida K., Hashimoto A., Yamaguchi T., Fukushi H., Hirai K. & Carmichael L.E. 1993. Virus reactivation in bitches with medical history of herpesvirus infection. *Am. J. Vet. Res.* 54:551-554.
- Rijsewijk F.A.M., Luiten E.J., Daus F.J., van der Heijden R.W. & van Oirschot J.T. 1999. Prevalence of antibodies against canine herpesvirus 1 in dogs in the Netherlands in 1997-1998. *Vet. Microbiol.* 65:1-7.
- Ronsse V., Verstegen J., Onclin K., Frédéric F. & Poulet H. 2004. Risk factors and reproductive disorders associated with canine herpesvirus-1 (CHV-1). *Theriogenology* 61:619-636.
- Ronsse V., Verstegen J., Onclin K., Guiot A.L., Aeberlé C., Nauwynck H.J. & Poulet H. 2002. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in the Belgian dog population in 2000. *Reprod. Domest. Anim.* 37:299-304.
- Schulze C. & Baumgärtner W. 1998. Nested polymerase chain reaction and situ hybridization for diagnosis of canine herpesvirus infection in puppies. *Vet. Pathol.* 35:209-217.
- Schwartz W.L. & Martin W.D. 1966. Canine herpesvirus infection of puppies. *Vet. Med.* 61:1171-1173.
- Smith K.C. 1997. Herpesviral abortion in domestic animals. *Vet. J.* 153:253-268.
- Watt D.A., Spradbrow P.B. & Lamberth J.L. 1974. Neo-natal mortality of puppies in Queensland caused by canine herpesvirus infection. *Aust. Vet. J.* 50:120-122.
- Wouters F., Varaschin M.S. & Wouters A.T.B. 2001. Herpesvírus canino: descrição de casos espontâneos. *Anais do 10^o Enapave, Pirassununga, SP*, p.127. (Resumo)