

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

MARCIO GOMES DE ALENCAR ARARIPE

**DETECÇÃO SOROLÓGICA DO HERPESVÍRUS EQUÍDEO (EHV-1 /
EHV-4) E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE
EQUINOS UTILIZADOS EM VAQUEJADA**

FORTALEZA

2010

MARCIO GOMES DE ALENCAR ARARIPE

DETECÇÃO SOROLÓGICA DO HERPESVÍRUS EQUÍDEO (EHV-1 / EHV-4) E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE EQUINOS UTILIZADOS EM VAQUEJADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Linha de Pesquisa: Reprodução e sanidade de carnívoros, onívoros, herbívoros e aves.

Orientadora: Profa. Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro.

FORTALEZA

2010

A368d Alencar-Araripe, Marcio
Detecção sorológica do herpesvírus equídeo (EHV-1 / EHV-4) e parâmetros hematológicos e bioquímicos de equinos utilizados em vaquejada / Marcio Gomes de Alencar Araripe. – Fortaleza, 2010.
77p.
Orientador:
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
1. *Equus caballus*. 2. Vaquejada. 3. Biomarcadores. 4. Herpesvírus equídeo. 5. Sorologia. I. Universidade Estadual do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

CDD: 636.089

MARCIO GOMES DE ALENCAR ARARIPE

DETECÇÃO SOROLÓGICA DO HERPESVÍRUS EQUÍDEO (EHV-1 / EHV-4) E PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE EQUINOS UTILIZADOS EM VAQUEJADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro
Universidade Estadual do Ceará
Orientadora

Prof. Dr. Abelardo Silva Júnior
Universidade Federal de Viçosa
Examinador

Prof. Dr. José Mário Girão de Abreu
Universidade Estadual do Ceará
Examinador

Profa. Dra. Virgínia Cláudia Carneiro Girão
Universidade de Fortaleza
Examinadora

À vida,
maior presente que um ser humano
pode receber de Deus.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me concedido o prazer de viver e conhecer pessoas que amo, me protegendo, guiando e tornando um vencedor.

A todos os animais, por serem fontes inesgotáveis de alegria e responsáveis pela minha dedicação aos estudos em Medicina Veterinária.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro concedido durante os dois anos de Mestrado.

À Profa. Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro, por ter acreditado no meu potencial, por sua orientação, colaboração, compreensão, incentivo e amizade.

Ao Laboratório de Virologia Animal da UFV e a todos os membros, que possibilitaram um aprendizado sólido e a realização de etapas importantes na execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Abelardo Silva Júnior pela colaboração junto ao Laboratório de Virologia Animal da UFV, orientando e permitindo a realização de etapas fundamentais na execução deste trabalho.

Aos Professores Abelardo Silva Júnior, Virgínia Carneiro Girão e José Mário Girão Abreu, pela valiosa participação na banca examinadora e amizade.

Aos colegas do Laboratório de Imunologia e Bioquímica de Animais (LIBA), pelo convívio harmônico no decorrer do período de Mestrado.

A todos os funcionários da Faculdade de Veterinária (FAVET), em especial aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) da UECE, pelos conhecimentos e experiências compartilhados, e às secretárias do PPGCV, Adriana Maria Sales Albuquerque e Ana Cristina Sabóia Nascimento, por estarem sempre empenhadas em auxiliar.

Aos meus pais, Moacir de Alencar Araripe Júnior e Francisca Guacira Gomes de Alencar Araripe, que são base da minha vida, por todo amor, carinho e dedicação, e por estarem sempre ao meu lado, me apoiando incondicionalmente.

Ao meu irmão, Moacir de Alencar Araripe Neto, pela amizade, companheirismo e confiança.

À minha namorada, noiva, amiga e parceira Débora Castelo Branco de Souza Collares Maia, por todo amor, carinho, compreensão e atenção dedicados a mim, sempre me incentivando em meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus avós, pelos exemplos de vida e dedicação, que me dão forças para nunca desistir diante das dificuldades.

Aos meus grandes amigos e amigas, que independente da distância, continuamos unidos por fortes laços de amizade e fraternidade inabaláveis até pela a morte.

Às demais pessoas que não foram aqui mencionadas, mas que contribuíram direta ou indiretamente em mais uma etapa da minha vida.

RESUMO

No nordeste brasileiro o mais popular esporte equestre é a vaquejada. Este trabalho teve como objetivos determinar o título de anticorpos contra o herpesvírus equídeo (EHV) e avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas de equinos. Foram utilizados 68 equinos (*Equus caballus*), machos, adultos, não vacinados contra EHV, utilizados em vaquejada provenientes de propriedades particulares, localizadas na região metropolitana de Fortaleza, Ceará. Amostras de sangue foram coletadas para a realização do hemograma completo, dosagens séricas bioquímicas e titulação de anticorpos anti-EHV. Foram detectados os teores de Uréia (U), Creatinina (Crea), aspartatoaminotransferase (AST), alaninoaminotransferase (ALT) e Proteínas totais (PT) e as frações albumina (A) e globulina (G). Os títulos de anticorpos anti-EHV foram determinados através da técnica de soroneutralização com a utilização de células VERO. A leitura dos resultados foi realizada após 72 horas de incubação, por meio do monitoramento do efeito citopático nos cultivos celulares. O título neutralizante foi considerado de acordo com a maior diluição capaz de prevenir a produção de efeito citopático. Os resultados foram expressos em valores mínimo e máximo e em percentagem. Ao hemograma completo a contagem total de hemácias variou de 3.650.000 a 9.640.000/mm³, a hemoglobina variou de 6,1 a 15,6 g/dL e o hematócrito variou de 18 a 44%. A contagem global de leucócitos variou de 3,7 a 11,7 x10³/mm³ enquanto as plaquetas variaram de 116.000 a 423.000/mm³. Os valores bioquímicos variaram de U 16 a 40 mg/dL, Crea 0,5 a 1,0 mg/dL, AST 15 a 573 U/L, ALT 3 a 72 U/L, PT 5,8 a 7,4 g/dL, A/G 0,72 a 2,28. A percentagem de animais positivos foi de 41,2% das amostras sorológicas com título médio geométrico de 5. Os resultados deste trabalho demonstram que os equinos utilizados em vaquejada apresentam alterações nos biomarcadores hematológicos e séricos e evidências sorológicas de infecção por EHV.

Palavras-chave: *Equus caballus*. Vaquejada. Biomarcadores. Herpesvírus equídeo . Sorologia.

ABSTRACT

In Northeastern Brazil, vaquejada is the most popular equestrian sport. The present work aimed at determining antibody titers against equine herpesvirus 1 (EHV-1) and evaluating hematological and biochemical alterations in horses. Sixty-eight adult male vaquejada horses from private farms from the metropolitan region of Fortaleza, Ceará, Brazil, which had not been previously vaccinated against EHV-1, were assessed. Blood samples were collected for the performance of complete hemograms, serum biochemical analyses and anti-EHV-1 antibody titration. Urea (U), creatinine (Crea), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total protein (TP) and the fractions albumin (A) and globulin (G) were dosed. Anti-EHV-1 antibody titers were determined in inactivated sera, through seroneutralization, by using VERO cells. Results were read after 72 hours of incubation, through the observation of cytopathic effects in cell culture. Neutralizing titer was considered to be the highest dilution capable of preventing the production of cytopathic effects. The results were expressed as minimum and maximum values and percentages. Total red cell counts varied from 3,650,000 to 9,640,000/mm³ and hemoglobin concentration and packed cell volume ranged from 6.1 to 15.6 g/dL 18 to 44%, respectively. Total leukocyte count ranged from 3.7 to 11.7 x 10³/mm³ and platelet count varied from 116,000 to 423,000/mm³. Values for biochemical analyses were for U 16 to 40 mg/dL, Crea 0.5 to 1.0 mg/dL, AST 15 to 573 U/L, ALT 3 to 72 U/L, PT 5.8 to 7.4 g/dL, A/G 0.72 to 2.28. *In vitro* virus neutralization was observed for 41.2% of serum samples, with a geometric mean titer of 1:5. These results show that horses used for the practice of vaquejada present hematologic and biochemical alterations and serological evidences of infection with equine herpesvirus.

Keywords: *Equus caballus*. Vaquejada. Biomarkers. Herpesvirus. Seroneutralization.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Temperatura em graus centígrados
AHV	Gammaherpesvírus
A/G	Relação albumina:globulina
ALB	Albumina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CK	Creatina fosfocinase
CREA	Creatinina
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
dL	Decilitros
EDTA	Ácido etileno diamino tetracético
EHV	Herpesvírus equídeo
FA	Fosfatase alcalina
g	Gramas
g/dL	Gramas por decilitro
GGT	Gamma glutamiltransferase
IL	Interleucina
LDH	Desidrogenase láctica
MCV	Mean corpuscular volume
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration
mg	Miligramas
mg/dL	Miligramas por decilitro
mL	Mililitros
PCR	Proteína c reativa
PCV	Packed cell volume
pH	Potencial Hidrogenionte
PPT	Proteínas totais
RBC	Red blood cell
SNC	Sistema nervoso central
U/L	Unidade por litro
UI/L	Unidade internacional por litro
U	Uréia

WBC	White blood cell
μL	Microlitros

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

EMBRAPA/CPAP – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

UECE – Universidade Estadual do Ceará

UFV – Universidade Federal de Viçosa

PPGCV – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

SUMÁRIO

Resumo	7
Abstract	8
Lista de abreviaturas	9
Sumário	11
1. Introdução	12
2. Revisão de Literatura	14
2.1. Herpesvírus equino	14
2.1.1. Epidemiologia	15
2.1.2. Patogenia e Sinais Clínicos	16
2.1.3. Diagnóstico	19
2.1.4. Latência	20
2.1.5. Imunoprofilaxia	22
2.2. Parâmetros hematológicos e bioquímicos	24
2.2.1. Parâmetros hematológicos	24
2.2.2. Parâmetros bioquímicos	27
3. Justificativa	33
4. Hipótese Científica	34
5. Objetivos	35
5.1. Objetivos gerais	35
5.2. Objetivos específicos	35
6. Capítulo I	36
Evidências sorológicas de herpesvírus equídeo em cavalos de vaquejada na região metropolitana de Fortaleza, Ceará, Brasil.	36
7. Capítulo II	52
Hematologic and biochemical profile of horses used for the practice of vaquejada in Ceará, Brazil.	52
8. Conclusão	66
9. Perspectivas	67
10. Referências bibliográficas	68

1. INTRODUÇÃO

Os equinos têm acompanhado e auxiliado o desenvolvimento do homem durante um longo período. Essa relação de convívio levou a utilização deste animal no trabalho rural e no desenvolvimento de diferentes modalidades de esportes equestres. Nessas competições, é exigido tratamento diferenciado para os atletas de cada modalidade que varia em duração, velocidade, força e agilidade.

O Brasil possui o terceiro maior rebanho equino do mundo, com 5,9 milhões de animais, ficando atrás apenas do México (6,2 milhões) e da China (7,9 milhões) (FAO, 2006; DINHEIRO RURAL, 2006). No Nordeste, estão 1,4 milhões desses animais, sendo 140 mil no Ceará (IBGE, 2006).

Os equinos existentes na Região Metropolitana de Fortaleza são, em sua maioria, utilizados para a prática de esportes. Dentre esses esportes, destaca-se a vaquejada por sua popularidade e pelo grande número de praticantes em todo o nordeste brasileiro. As vaquejadas são frequentes e muitos animais participam semanalmente dessas competições que podem durar até quatro dias. É um esporte extenuante, mesmo para equinos com bom condicionamento físico, e os animais podem apresentar queda de desempenho esportivo ao longo da prova. Tem sido observado nos parques de vaquejada, alta concentração de animais e baixo controle sanitário que podem levar a uma intensa exposição dos animais a novos patógenos.

As viroses possuem elevada importância sanitária e econômica na equideocultura mundial, destacando as infecções herpéticas (DIEL et al., 2006). O herpesvírus equídeo (EHV) tem como característica a manutenção da infecção de forma latente (PARADIS et al., 2006). As secreções nasais representam a principal fonte de infecção, após a reativação das infecções (WEIBLEN, 2001).

No Brasil, o primeiro isolamento do EHV foi descrito por Nilson e Corrêa (1966). Evidências diretas e indiretas de infecção pelo EHV foram descritos em Minas Gerais (CARVALHO et al., 1991), no Rio Grande do Sul (VARGAS e WEIBLEN, 1991; WEIBLEN et al., 1994), no Pará (HEINEMANN et al., 2002) em São Paulo (LARA et al., 2003) e no Paraná (LARA et al., 2006). Dessa forma, tornam-se relevantes estudos sobre essa virose devido à carência de dados relativos a essa espécie na região Nordeste e, em particular, no Ceará.

Paralelamente à pesquisa de anticorpos anti-EHV, os valores hematológicos e bioquímicos séricos são de grande utilidade na avaliação do estado clínico do animal e da

extensão das lesões existentes, podendo dar indicações sobre o acometimento de infecções bacterianas, fúngicas e virais, do animal ou o comprometimento do funcionamento de órgãos como o fígado, rins e coração.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. HERPESVÍRUS EQUINO

Herpesvírus equídeo (EHV) são vírus DNA, pertencente à família *Herpesviridae*, possuindo envelope, tamanho aproximado de 150 nm, com nucleocapsídeos de formato icosaédrico e aproximadamente 100 nm de diâmetro. O vírus replica no núcleo e matura por brotamento através da membrana citoplasmática e, assim, adquire o envelope (MURPHY et al., 1999).

Em equídeos existem nove herpesvírus identificados: cinco deles pertencem à subfamília *alphaherpesvirinae*, dois a *gammaherpesvirinae* e um ainda não classificado. O cavalo é o hospedeiro natural dos EHV-1, EHV-3, EHV-4, EHV-2 e EHV-5, enquanto que os asininos são hospedeiros do AHV-3 (homólogo ao EHV-1), AHV-1 (homólogo ao EHV-3) e AHV-2. O isolamento de um novo EHV foi relatado, trata-se de um vírus neurotrópico de uma gazela (“Gazelle herpesvírus-1”; EHV-9) indicando que a lista atualmente conhecida de herpesvírus equídeo está em provável crescimento. EHV-1 e EHV-4 são clinicamente, economicamente e epidemiologicamente os mais relevantes patógenos (ICTV, 2009).

EHV-1 era classificado como EHV-1 subtipos 1 e 2. A partir de 1981 foi adotado uma nova classificação, na qual o EHV-1 subtipo 2 foi designado como EHV-4, mas o reconhecimento oficial desta distinção ocorreu somente uma década depois. As diferenças entre o EHV-1 e o EHV-4 estão ligadas à capacidade de multiplicação do vírus, às vias de eliminação para o meio externo e à sintomatologia clínica. Essas diferenças se devem a presença de antígenos de superfície (glicoproteínas) específicos para cada grupo presente no envelope viral que influenciam significativamente a biologia dos mesmos. Mas ambos antigenicamente e geneticamente mostram considerável reação cruzada devido ao nível de semelhança entre 55 a 96% na sequência de aminoácidos idênticos das glicoproteínas (RIET-CORREA et al., 1998; ARDANS, 2003).

Experimentalmente, o EHV-2 está associado a uma leve rinite e conjuntivite, enquanto que o EHV-3 causa uma infecção venérea auto-limitante na genitália externa. Embora ambos EHV-2 e EHV-3 sejam muito prevalentes, comparados aos EHV-1 e EHV-4, as doenças provocadas pelos EHV-2 e EHV-3 são consideradas de baixo impacto econômico e de pouca importância veterinária. Epidemiologicamente, os dados de prevalência do EHV-5 são escassos (MURPHY et al., 1999; ARDANS, 2003).

2.1.1. EPIDEMIOLOGIA

Ambos EHV-1 e EHV-4 são endêmicos na população mundial de equinos. Devido à similaridade antigênica entre EHV-1 e EHV-4 a interpretação dos dados sorológicos coletados até o início da década de 1990 era complicada devido à indisponibilidade de um teste com anticorpos específicos para cada tipo. Por isso, a interpretação de alguns dados sorológicos obtidos através de testes com anticorpos convencionais (não específicos), tais como a vírus-neutralização e a fixação de complemento, é imprecisa. Também é necessário destacar que os estudos soro-epidemiológicos são complicados na população de cavalos que foram vacinados contra EHV-1 e/ou EHV-4 (AGUIAR et al., 2006).

Nos EUA, 85% dos potros testados entre 6 a 8 meses pós-desmame foram inicialmente soropositivos para EHV-1, mas a soro-conversão foi conseqüentemente corrigida para EHV-4 (HIRSH et al., 2003).

Por outro lado, Gilkerson et al. (1998) reportaram que a infecção do EHV-1 em potros que estão mamando pode ocorrer cedo, até os 30 dias de idade. Entretanto, éguas lactantes podem ser fontes de infecção primária do EHV-1 para os potros que futuramente transmitem o vírus para outras éguas e potros.

Gilkerson et al. (1999) relataram a prevalência de anticorpos contra EHV-1 em éguas e potros de 26,2% e 11,4%, respectivamente; enquanto que mais de 99% das éguas e potros testados tinham anticorpos contra EHV-4. O estresse é uma das causas de ativação do vírus latente que é re-excretado no meio, tornando-se fonte para tais transmissões. Embora dados epidemiológicos similares não sejam observados para o EHV-4 a alta prevalência deste vírus referida anteriormente sugere que a infecção do EHV-4 em cavalos provavelmente também ocorre logo após o nascimento.

O impacto da infecção pelo EHV-1 pode ser assolador, particularmente, quando ocorrem episódios de aborto. No Brasil, o primeiro isolamento do vírus foi descrito por Nilson e Correa em 1996. Em um estudo sorológico realizado em São Paulo, foram encontradas 17,6% das amostras positivas. De 348 amostras de soros examinadas, provenientes de vários municípios do estado do Rio Grande do Sul, foram encontradas 84,7% positivas, com título médio geométrico de 5, utilizando a prova de soroneutralização. Casos de abortos já foram descritos no Rio Grande do Sul (VARGAS e WEIBLEN, 1991).

No que tange a pesquisa de anticorpos contra o EHV, a prevalência de 17,71% de equinos soropositivos foi determinada por HEINEMANN et al. (2002) que se aproxima dos dados obtidos por DIAS (2000), quem observou 21,70% e 13,18% de animais soropositivos

na Ilha de Marajó e no resto do Estado do Pará, respectivamente. Quanto às propriedades, foi observada uma prevalência de 40,62% de fazendas positivas para o EHV no Município de Uruará. Estes dados reforçam os achados por DIAS (2000), que detectou a presença de anticorpos contra o EHV em 30 de 33 fazendas do Estado do Pará, concluindo-se que o EHV encontra-se amplamente disseminado nas propriedades rurais do município de Uruará/PA.

Em 1993, foi realizado um estudo pela EMBRAPA/CPAP, com a cooperação do Animal Health Institute da Inglaterra, com 50 equinos, incluindo animais que apresentavam sintomatologia respiratória, tendo sido encontrado 36% dos animais positivos para o EHV-1 e 58% dos animais positivos para o EHV-4 (SORIANO et al.,1997).

Alguns dados publicados até o momento sugerem que o EHV-1 é também um importante patógeno de equinos selvagens, como exemplo pode-se citar os casos de aborto e de mortalidade perinatal de potros em um rebanho de zebra (*Equus grevyi*) no zoológico de Chicago (BLUNDEN et al., 1998).

2.1.2. PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

EHV -2 (também chamado de citomegalovírus) é a causa de uma infecção comum que começa no nascimento e continua por períodos muito longos em potros. Alguns destes potros infectados desenvolvem sinais clínicos de corrimento nasal purulento, febre e linfadenopatia, em uma síndrome que permanece cerca de uma semana. Raramente os animais acometidos morrem (BLOOD e RADOSTITIS, 1991).

Exantema coital equino causado pelo EHV-3 é uma doença venérea, que se manifesta por lesões papulares, pustulares e, por fim, ulcerativas na mucosa vaginal que, em geral, é eritematosa. As úlceras podem atingir 2 cm de diâmetro e 0,5 cm de profundidade, circundadas por uma zona hiperêmica. Nos casos graves, as lesões se estendem pela vulva e pela pele do períneo em torno do ânus. No macho, lesões semelhantes são encontradas no pênis e no prepúcio. Muitos casos discretos não são percebidos porque não há doença sistêmica e os animais acometidos comem bem e se comportam normalmente (BLOOD e RADOSTITIS, 1991).

O efeito do EHV-3 sobre a fertilidade é um equívoco, embora possa haver perda de libido durante o estágio ativo da doença em garanhões. A infecção parece espalhar-se por éguas carreadoras clinicamente normais. O período de incubação é de dois a dez dias e a evolução até a cicatrização total das úlceras é de cerca de 14 dias. Infecção bacteriana secundária pode originar corrimento purulento e evolução mais prolongada. Em alguns surtos,

ocorrem lesões na pele dos lábios e em torno das narinas e na conjuntiva. Também podem estar presentes no focinho do potro (BLOOD e RADOSTITIS, 1991).

Antes de 1981, um único vírus “EHV-1” era conhecido como o causador da rinopneumonite febril, ataxia, aborto e doença neonatal do potro. Entretanto, foi estabelecido, desde 1972, que as cepas de EHV-1 seriam distinguidas como vírus respiratório (subtipo 2) e abortogênico (subtipo 1). O EHV-1 foi relatado primeiro por Manning (1949) como o responsável por ataxia e aborto, mas o isolamento viral de casos semelhantes ocorreu muito tempo depois. Na forma aguda, naturalmente ocorre doença respiratória em infecções por EHV-1 e EHV-4 sendo caracterizada por febre, anorexia, descarga nasal variável e doença ocular. A proliferação bacteriana na mucosa nasal pode ser um fator que contribui para o desenvolvimento da rinopneumonite. Experimentalmente, entretanto, EHV-1 causa uma doença muito mais severa que a induzida pelo EHV-4 (PATEL e HELDENS, 2005).

A replicação primária do EHV-1 ocorre nas células epiteliais do trato respiratório superior e nos linfonodos locais, resultando em uma viremia associada a leucócitos. Esta viremia, na infecção aguda, é um pré-requisito para o aborto e para a paresia devido à replicação do EHV-1 nas células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos do SNC e do útero prenhe (REED e TORIBIO, 2004).

Uma infecção generalizada dos vasos sanguíneos endometriais resulta em uma severa vasculite e trombose multifocal, as quais podem resultar em um aborto por lesões no endométrio sem infecção viral do feto. Lesões vasculares menos extensas podem permitir a transferência de vírus ao longo da barreira uteroplacentária e, então, ocorre o aborto devido à infecção do feto pelo vírus. Uma infecção transplacentária próxima ao parto pode resultar no nascimento de um potro vivo infectado, acompanhado usualmente pela morte alguns dias após o nascimento, condição conhecida como doença neonatal do potro (PATEL e HELDENS, 2005).

Estas diferenças no potencial abortogênico podem estar relacionadas a diferenças no nível de viremia ou de infecção das células endoteliais que variam conforme a cepa do vírus. Mais de 95% dos abortos provocados por EHV-1 ocorrem no terço final da gestação e muito raramente em outros estágios. Não se sabe por que ocorre um aumento de susceptibilidade no terço final de gestação das éguas. Uma possível explicação pode estar relacionada a fatores do hospedeiro ainda indefinidos, os quais reativam o EHV-1 da latência nos leucócitos. Estudos *in vitro* têm demonstrado que tanto a IL-2, como a gonadotrofina coriônica equina (eCG) influenciam na reativação do vírus nos leucócitos latentemente infectados (REED e TORIBIO, 2004).

Um baixo nível de infecção dos vasos sanguíneos do útero, no início da prenhez, tem sido demonstrado e isto leva a hipótese de que a extensão da lesão vascular uterina pode ser importante para determinar se o vírus é capaz ou não de atravessar a placenta. Lesões na placenta e a utilidade do exame placentário no diagnóstico de abortos provocados pelo EHV-1 têm sido recentemente descritas (PATEL e HELDENS, 2005).

Em contraste com o EHV-1, a patogenicidade do EHV-4 tem sido pouco estudada. A viremia associada aos leucócitos não é uma característica consistente da infecção por EHV-4, tampouco o aborto e a paresia. Apesar da alta incidência comparada ao EHV-1, dados avaliados implicam que a ocorrência de aborto em éguas, nas infecções pelo EHV-4, varia extremamente (REED e TORIBIO, 2004).

Em Kentucky, EUA, entre 1983 e 1992 a incidência de abortos devido ao EHV-4 foi menor que 1%, enquanto que na Inglaterra entre 1987 e 1993 a porcentagem reportada foi acima de 16%. Exames detalhados de lesões vasculares induzidas pela infecção por EHV-4 em potros também têm sido descritos. Foi verificado que o EHV-4 replica-se nas células endoteliais dos vasos sanguíneos e foi sugerido que a patogenia do EHV-4 em abortos talvez tenha uma base vascular similar ao que ocorre com o EHV-1. As diferenças observadas podem ser devido a diferenças entre cepas, mas ainda não há comprovação. O que se sabe, porém, é que no geral o EHV-4 não está associado a abortos e evidências para seu papel em paresias são limitadas (PATEL e HELDENS, 2005).

Enquanto o EHV-4 é um patógeno do trato respiratório cuja replicação se restringe, normalmente, à mucosa do epitélio do trato respiratório superior e ao tecido linfóide regional, as consequências potenciais para a saúde pela infecção por EHV-1 se estendem além do trato respiratório (REED e TORIBIO, 2004).

EHV-1 tem o potencial para causar enfermidades mais sérias e invasoras envolvendo órgãos de outros sistemas. Mesmo na ausência de sinais claros de enfermidade respiratória, a infecção pelo EHV-1 (e raramente também pelo EHV-4) pode conduzir ao risco de desenvolvimento de cinco sequelas clínicas importantes: aborto, mortalidade neonatal, mieloencefalopatia, infecção pulmonar vasculotrópica e enfermidade ocular. Existem cepas hipervirulentas de EHV-1 que possuem a capacidade de causar elevados índices de manifestações e sequelas clínicas (PATEL e HELDENS, 2005).

2.1.3. DIAGNÓSTICO

A identificação rápida e inequívoca do agente etiológico do primeiro caso de enfermidade respiratória dentro de um grupo de cavalos é essencial para ajudar o médico veterinário a tomar as decisões do tratamento e planejar as estratégias para controlar a disseminação epizootica da infecção. Os principais diagnósticos diferenciais para enfermidade respiratória viral nos cavalos incluem, além de EHV-1 e EHV-4, vírus da influenza, adenovírus, rinovírus e o vírus da arterite equina. Somente os sinais clínicos não são suficientes para diferenciar os herpesvírus de outras causas comuns de enfermidades respiratórias em equinos, portanto testes laboratoriais são necessários para realizar o diagnóstico (ALLEN, 2002).

A confirmação do diagnóstico de enfermidade respiratória por herpesvírus baseia-se na demonstração do EHV-1 ou do EHV-4 nas secreções nasofaríngeas ou nos leucócitos dos cavalos afetados. O êxito do diagnóstico laboratorial para o EHV-1 e EHV-4 depende das técnicas utilizadas para a coleta, manejo, transporte, armazenamento e processamento das amostras clínicas (REED e TORIBIO, 2004).

Os métodos disponíveis no diagnóstico laboratorial para herpesvírus equídeo incluem o isolamento do vírus, a reação em cadeia de polimerase (PCR), imunofluorescência para detecção de antígenos virais e provas sorológicas (ALLEN et al., 2006). A prova laboratorial para EHV-1 ou EHV-4 que oferece os melhores resultados, é o isolamento do vírus de secreções nasofaríngeas ou dos leucócitos, depois de sua inoculação em monocamadas de cultivos celulares suscetíveis. Os efeitos citopáticos do EHV-1 e EHV-4 são característicos e pode ser feita a identificação sorológica dos herpesvírus com anticorpos monoclonais tipo-específicos (REED e TORIBIO, 2004). Os procedimentos normais de isolamento viral tem a desvantagem de necessitar de vários dias para obtenção do resultado, o que o faz de menor utilidade para o clínico (YACTOR et al., 2006).

A amplificação de DNA viral mediante PCR é um ensaio rápido, sensível e utilizado com mais frequência para a detecção da infecção do trato respiratório por EHV-1 ou EHV-4. Podem ser processadas para a detecção de herpesvírus as mesmas amostras utilizadas para o isolamento viral (LAWRENCE et al, 1994).

2.1.4. LATÊNCIA

A latência é uma importante estratégia epidemiológica garantindo a sobrevivência e a disseminação do vírus dentro da população de hospedeiros naturais. O cavalo portador crônico é aquele no qual o EHV-1 e/ou o EHV-4 persiste de maneira não infecciosa, além do

período de recuperação da infecção aguda do trato respiratório. A proporção de portadores assintomáticos é alta. Aproximadamente 60% dos cavalos que se recuperam da infecção respiratória primária provocada pelos herpesvírus tornam-se portadores latentemente infectados, durante toda a vida, capazes de servir como uma fonte de infecção para cavalos suscetíveis (REED e TORIBIO, 2004).

Os reservatórios celulares para os vírus latentes EHV-1 e EHV-4 são os neurônios sensitivos dos gânglios trigêmeos e os linfócitos T dos gânglios linfáticos que drenam o trato respiratório superior, como: nódulos linfáticos submandibulares, retrofaríngeos e bronquiolares (SLATER et al., 1994). Nestas células, o genoma viral está presente, sem a produção de partículas virais infecciosas. No entanto, a latência é um estado reversível, no qual os genomas dos vírus latentes podem reativar-se para recuperar sua plena atividade de transcrição com uma produção consequente de vírus infeccioso (REED e TORIBIO, 2004).

Enquanto que no estado infeccioso EHV-1 e EHV-4 estão expostos totalmente ao controle imune do animal, o herpesvírus latente está protegido do reconhecimento e da destruição pelo sistema imune e pode permanecer como hóspede por toda a vida, mesmo na presença de uma forte imunidade adquirida (ALLEN, 2002).

Experimentalmente, o EHV-1 tem sido reativado em cavalos infectados naturalmente ou experimentalmente e em animais livres de patógenos específicos, os chamados SPF (specific pathogen free), sob imunossupressão, mas com diferentes resultados. O vírus é reativado principalmente em leucócitos e, ocasionalmente, na mucosa nasal, após o tratamento com corticosteróides em cavalos. Nos animais SPF, foi observada uma maior reativação do vírus na mucosa nasal, após o tratamento com corticosteróide e ciclosfosfamida. Os linfócitos T CD4+/CD8+ foram definidos como sendo o sítio de latência principal do EHV-1, os quais são ativados pela IL-2 e gonadotrofina coriônica equina (ECG). Já a reativação e excreção nasal do EHV-4 foram relatadas em cavalos de campo infectados, após o tratamento com corticosteróide (REED e TORIBIO, 2004).

Os fatores fisiológicos responsáveis pela reativação do vírus latente e a relativa importância dos sítios de latência neural e linfóide sob condições naturais permanecem indefinidos. Contudo, é conhecido que a reativação espontânea pode ocorrer mediante diversos estímulos como desmame, cirurgias, estabulação, transporte prolongado, parto, lactação, condições climáticas extremas, rompimento social e doenças terminais, podendo ocorrer na ausência de sinais clínicos (PATEL e HELDENS, 2005).

2.1.5. IMUNOPROFILAXIA

As glicoproteínas têm um importante papel na biologia dos herpesvírus, particularmente no processo de infecção (adsorção do vírus, penetração e disseminação célula-a-célula), patogenicidade e como alvo do sistema imune, uma vez que são expressas na superfície das células infectadas. Para ambos, EHV-1 e EHV-4, existe uma homologia, quando comparados ao herpesvírus simples 1 (HSV1), em pelo menos 10 das 11 glicoproteínas conhecidas (gB-gp14, gC-gp13, gD-gp18, gE, gG, gH, gI, gK, gL, e gM) (TELEFORD et al., 1998).

Do ponto de vista da imunoprofilaxia, uma importante questão é o nível de proteção cruzada proporcionada pelo EHV-1 e/ou EHV-4 nos cavalos. Infelizmente, os dados experimentais são escassos e contraditórios, principalmente, os baseados na sorologia. EHV-4, em potros SPF, induz anticorpos neutralizantes em iguais títulos para ambos EHV-4 e EHV-1, já o EHV-1 produz uma resposta com baixa especificidade. Alguns dados experimentais sugerem que algumas cepas de EHV-1 são melhores que algumas de EHV-4 em provocar resposta específica (TEWARI et al., 1993).

A eliminação do EHV das criações de cavalo é teoricamente impossível devido à característica do estado portador. A prevenção, ao invés da erradicação ou do tratamento da enfermidade, oferece o meio mais eficaz para controlar a enfermidade respiratória causada pelo herpesvírus e suas possíveis sequelas. As estratégias dirigidas à redução do impacto econômico e ao bem-estar associado às infecções respiratórias pelo EHV-1 e EHV-4, incluem a imunização profilática e a aplicação de práticas preventivas de manejo (AGUIAR et al., 2008).

A vacinação contra a enfermidade respiratória causada pelo EHV-1 e o EHV-4 é recomendada como parte do programa preventivo para todos os cavalos com risco de adquirir a infecção. Teoricamente, todos os potros tem títulos de anticorpos específicos para o EHV-1 e o EHV-4 que podem ser medidos depois da ingestão do colostro da mãe. Os anticorpos maternos para o EHV-1 e o EHV-4 decaem, pois possuem uma meia-vida de 26 dias. Os potros se tornam soronegativos e, por conseguinte totalmente suscetíveis à infecção aos 5-6 meses de idade (REED e TORIBIO, 2004).

Portanto, devem-se administrar as vacinas e as subseqüentes revacinações a fim de proporcionar um nível máximo de proteção imune aos potros, principalmente em momentos estressantes, como os associados ao desmame, transporte, introdução, reagrupação social, vendas, treinamento e competições (REED e TORIBIO, 2004).

Nos grandes grupos de animais, uma cobertura vacinal ampla pode ajudar a reduzir a disseminação da infecção, devido aos benefícios agregados à imunidade populacional. As éguas prenhes devem ser imunizadas conforme as recomendações do fabricante, sempre utilizando produtos que já demonstraram ser eficazes na prevenção do aborto provocado pelo EHV-1. Nenhuma vacina atual demonstrou ser eficaz para proteger contra a manifestação nervosa causada pela infecção do EHV. Atualmente, estão disponíveis vacinas inativadas e vacinas com vírus vivo atenuado (REED e TORIBIO, 2004).

É importante ressaltar que a vacinação de potros não previne a infecção respiratória, porém diminui a intensidade dos sinais clínicos e a magnitude e duração da excreção de vírus infeccioso. O estado de portador latente, tampouco é prevenido pela vacinação. Por conseguinte, a meta da vacinação contra a enfermidade respiratória pelo herpesvírus é a diminuição da severidade da enfermidade respiratória e redução da difusão da infecção dentro da população de equinos (AGUIAR et al., 2008). O desenvolvimento de uma vacina mais eficaz contra a enfermidade respiratória pelos herpesvírus em equinos jovens é definitivamente uma prioridade (REED e TORIBIO, 2004).

2.2. PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Uma rotina de avaliação clínica, incluindo exames laboratoriais, seria de grande valor para acompanhar o desenvolvimento e desempenho desses animais. A diversidade de informações que o hemograma pode fornecer, embora, em geral, bastante inespecíficas, torna esse exame subsidiário um dos mais solicitados nas práticas clínica e cirúrgica (GROTTO, 2009).

Exames bioquímicos séricos também são solicitados, como auxílio para clínica, incluindo os teores de proteínas plasmáticas totais e frações, AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase), uréia e creatinina. Estes parâmetros constituem informações relevantes associadas a várias patologias, dentre elas aquelas mediadas por vírus, bactérias e parasitas, ou associadas a alterações no funcionamento de tecidos e órgãos vitais como, coração, rins, fígado e sistema imune.

A interpretação do perfil bioquímico é complexa, tanto aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, devido aos mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólitos e devido também, à grande variação desses níveis em função de fatores como raça, idade, stress, dieta, nível de produção leiteira, manejo, clima e estado fisiológico (lactação, gestação, estado reprodutivo) (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

2.2.1. PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

O eritrograma inclui a contagem global de eritrócitos e a determinação de hemoglobina, do hematócrito, do volume corpuscular médio (VCM) e da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Os eritrócitos apresentam como funções o transporte de oxigênio para os tecidos, transporte de gás carbônico para os pulmões e troca de íons hidrogênio (MEYER e HARVEY, 1998).

A avaliação do eritrograma presta grande auxílio na análise do animal em exercício físico, pois há necessidade, neste momento, de uma quantidade ainda maior de oxigênio e de hemácias, que serão liberadas através de contração esplênica que ocorre durante o exercício. A capacidade do baço de se expandir e se contrair pode resultar em alterações substanciais no hematócrito, especialmente em cães e equinos (MEYER e HARVEY, 1998).

Vários autores avaliaram a influência do exercício físico sobre o hematócrito, a hemoglobina, volume globular e proteínas plasmáticas e verificaram aumento significativo

desses parâmetros (RUBIO et al., 1995; SOMMARDAHL e ANDREWS, 1997; CONCEIÇÃO et al., 2001).

Revington (1983) verificou uma elevação nos valores de hematócrito, hemoglobina, eritrócitos, leucócitos e proteínas totais comparando equinos de corrida em repouso e em fase de pré-treinamento. O oposto ocorre na sobrecarga, onde foi verificada uma queda substancial no hematócrito de equinos (HAMLIN et al., 2002). No entanto, Van Heerden et al. (1990) avaliando cavalos de corrida em treinamento não observaram diferenças significativas entre esses parâmetros.

Para determinar as influências hematológicas exercidas por diferentes regimes de manejo em 42 potros, do nascimento aos 5 meses de idade, Brommer et al., 2001, realizaram um estudo, comprovando que tais regimes alteraram a concentração de hemoglobina e o hematócrito, entre outras variáveis que não relacionadas ao hemograma, estando a alteração desses parâmetros ligada ao metabolismo e maturação de tecidos, o que ocorre de forma diferenciada para cada tipo de manejo.

A idade também provoca influências no eritrograma, como foi evidenciado por Waelchli et al. (1994), que avaliaram as alterações hematológicas de 18 potros, do nascimento aos dois meses de idade, observando uma diminuição nos valores do hematócrito, hemoglobina e eritrócitos durante a primeira semana, embora as hemácias aumentassem até o segundo mês. Harvey et al. (1984) obtiveram os mesmos resultados ao avaliarem potros puro sangue inglês e Quarto de Milha durante o primeiro ano de vida.

As únicas variações no eritrograma detectadas por McFarlane et al. (1998) e Ralston et al. (1988), ao estudarem alterações hematológicas em equinos geriátricos em comparação com os não-geriátricos, foi em relação aos índices hematimétricos em que houve aumento de VCM e diminuição de HCM no grupo geriátrico.

Quanto ao sexo, já foram observadas diferenças. ALMEIDA e SILVA (1995), avaliaram o hemograma de 155 equinos da raça Crioula, concluindo que as fêmeas apresentaram uma maior contagem de eritrócitos que os machos, o que não foi verificado em um estudo conduzido por Cebulj-Kadunc et al. (2002), onde a contagem dos eritrócitos e a dosagem de hemoglobina foram maiores em garanhões do que em éguas da raça Lippizan.

Existem divergências quanto os valores de referência citados na literatura, conforme a tabela 1.

Krumrych et al. (1993) detectaram valores de eritrócitos e hematócrito de equinos selvagens como inferiores aos descritos para as diferentes raças domésticas.

Tabela 1. Valores médios da série vermelha encontrados por diferentes autores.

Autores	Fagliari e X Silva, 2002	Conceição et al., 2001	Mcfarlane et al., 1998	Jain, 1993	Plotka et al., 1988
Parâmetros					
Eritrócitos (x10 ⁶ /mm ³)	6,87	7,84	7,65	9,0	9,9
Hemoglobina (g/dL)	10,62	13,7	12,4	14,4	16,4
Hematócrito (%)	37,8	37,7	36,4	41	46,3
VCM (fL)	55,31	48,3	47,8	45,5	47,1
CHCM (%)	27,9	36,4	34,1	35,2	35,2

Os leucócitos são células sanguíneas onde se incluem os neutrófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos e linfócitos. Todos participam das defesas específicas e inespecíficas. A contagem leucocitária total e diferencial, as quais compõem o leucograma, representam ferramentas valiosas na avaliação da resposta do hospedeiro a infecções microbianas e no diagnóstico de leucemias e de outras enfermidades (JAIN, 1993).

Schalm et al. (1975) adotam os valores de 6,0 a 12,0 x 10³ /μL como os ideais para a espécie. Enquanto Jain (1993) o intervalo de 5,5 a 12,5 x 10³/μL. Já Meyer e Harvey (1998) consideram a contagem leucocitária normal em equinos de 5,2 a 13,9 x 10³/μL.

Waelchli et al. (1994) afirmam que as contagens total e diferencial variam com a espécie animal e são influenciadas pela idade, sendo que são altas ao nascimento e diminuem gradualmente, para atingir valores de adultos aos 2 a 12 meses de idade. Resultados semelhantes foram evidenciados na espécie asinina (DINEV e KHUBENOV, 1986). Salientando as diferenças em relação à idade e ao sexo, em que os machos jovens apresentaram uma maior contagem diferencial absoluta de linfócitos, neutrófilos e bastonetes (ALMEIDA e SILVA, 1995; CEBULJ-KADUNC et al., 2002). Tem sido observado em equinos geriátricos índices significativamente menores de linfócitos (McFARLANE et al., 1998). Mesmo quando a diferença de idade não é tão exacerbada, há alterações significativas em contagens leucocitárias e linfocitárias de equinos mais velhos (CARDOSO, 2008).

O exercício físico também pode alterar os valores leucocitários. O efeito do exercício sobre a resposta leucocitária de oito equinos de corrida, foi neutrofilia, monocitose e

linfopenia significativas de 12 a 16 h após a corrida, caracterizando um quadro de estresse (NESSE et al., 2002; ROBSON et al., 2003). Esses dados fornecem subsídio para afirmar que o exercício de longa duração provoca um impacto negativo na imunidade inata, mesmo após vários dias da corrida. Contudo, a influência de corridas de diferentes distâncias não apresentou efeito sobre variáveis laboratoriais em equinos incluindo a contagem leucocitária (BARTON et al., 2003).

De acordo com Duncan et al. (1994), podem existir as seguintes respostas leucocitárias no equino: leucocitose fisiológica, leucograma de estresse, observado no exercício muscular prolongado, e leucograma de doenças inflamatórias. Entretanto, Tyler-McGowan et al. (1999) discordam da sentença supracitada, uma vez que não foram observadas alterações hematológicas e bioquímicas em cavalos submetidos ao exercício muscular prolongado.

As plaquetas possuem várias funções no organismo de mamíferos, principalmente na hemostasia primária. Quando ativadas, as plaquetas aderem ao colágeno subendotelial, mudam de forma e liberam mediadores armazenados em suas organelas, assim como se agregam umas às outras para formar o tampão hemostático primário (WEISS et al., 1997, NYARKO et al., 1998). Embora as plaquetas façam parte do equilíbrio hemostático, nem sempre as alterações de plaquetas estão relacionadas a distúrbios do sistema de coagulação (WURZINGER e SCHMID-SCHÖNBEIN, 1990), já que possuem propriedades particulares e podem responder a diversos mediadores liberados pela ativação de outros tipos celulares, a partir de estímulos diversos (WURZINGER 1990, ABLETT et al., 1997).

As disfunções de plaquetas ocorrem em diversas enfermidades nos equinos, tais como cólica, tromboembolismo nas artérias ilíacas, síndrome do navicular (WEISS et al., 1997), laminite (WEISS et al., 1996) e endotoxemia (JARVIS e EVANS 1994).

Os processos inflamatórios devem ser considerados como potenciais causas de morte em equinos portadores de distúrbios que predisponham a hipercoagulabilidade e tromboembolismo.

Segundo Villamandos et al. (1996), poucos estudos tem sido desenvolvidos para avaliar a mudança de forma das plaquetas na patogenia de doenças virais e hemorrágicas.

2.2.3. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

As proteínas plasmáticas ocupam uma posição central e dominante no metabolismo protéico, devido a sua íntima relação com o metabolismo hepático e às interações com outros tecidos, por todo o corpo. As proteínas plasmáticas são, sem dúvida, as fontes protéicas mais

facilmente disponíveis no corpo do animal para estudo. Quase todas as enzimas são proteínas globulares, como também o são as proteínas sanguíneas de transportes, os anticorpos e as proteínas de reserva nutritiva (CARDOSO, 2008).

De acordo com Cardoso (2008), o principal local de síntese de proteínas plasmáticas – albumina, fibrinogênio, protrombina, alfa e betaglobulinas – é o fígado. Em geral, o soro sanguíneo contém cerca de 7,0 g/dL de proteínas. As funções das proteínas no organismo são inúmeras: manutenção da pressão osmótica, catálise de reações bioquímicas, manutenção do equilíbrio ácido-base, coagulação sanguínea, nutrição e defesa do organismo (KANEKO et al., 1997).

Dentre as proteínas plasmáticas destacam-se a albumina, as globulinas e o fibrinogênio. As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada ao estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, e com a funcionalidade hepática (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

Proteínas totais e suas frações assumem extraordinária importância clínica, uma vez que a concentração protéica total no plasma é responsável pela sua pressão coloidosmótica e as variações observadas nas diversas frações podem refletir doenças específicas e trazer valiosos subsídios para o seu diagnóstico (MILLER e GONÇALVES, 1999).

O estudo do equilíbrio hídrico de um animal pode ser avaliado se utilizarmos a estimativa dos níveis de proteínas totais. Esta prova juntamente com a determinação do volume globular e/ou hemoglobina, tem valor na determinação do grau de desidratação. Pode ser utilizada na avaliação do estado nutricional. Podendo ainda refletir alterações metabólicas na concentração das proteínas totais e pode ser indicativa de doenças. Podemos observar alteração nos valores de proteínas totais, em associação com hepatopatias e nefropatias, que auxiliam tanto no diagnóstico como prognóstico. A hipoproteïnemia é advinda de ingestão inadequada de nutrientes, de perda excessiva de proteínas, de queimaduras, de feridas, de proteinúria ou do aumento na degradação protéica por gliconeogênese (CARDOSO, 2008).

As proteínas plasmáticas podem estar diminuídas na síndrome da má absorção, na cirrose hepática, na síndrome nefrótica, na sobreidratação, nas enteropatias, em animais jovens e nas hemorragias. As proteínas plasmáticas podem estar aumentadas na desidratação, na perda de fluidos corporais, nas infecções, nos tumores, no choque, em animais mais velhos e na presença de hemólise na amostra a ser utilizada (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, e tem peso molecular aproximado de 66 KD. É sintetizada no fígado e contribui em 80% com a osmolaridade do plasma

sanguíneo. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, reserva protéica e atua também como transportadora de ácidos graxos livres, de aminoácidos, de metais, de cálcio, de hormônios e, atua como ânion. É uma proteína globular hidrossolúvel sintetizada no fígado, pelos hepatócitos, e catabolizada nos tecidos periféricos, sendo a principal responsável pela manutenção da pressão osmótica intravascular (FENNER, 2003).

A albumina constitui cerca de 40% a 60% da concentração total de proteínas séricas em animais sadios. Além da pressão osmótica, pode agir como fonte primária de aminoácidos de reserva para as proteínas tissulares. Devido à sua grande capacidade de ligação a outras substâncias, evita a excreção precoce de algumas drogas, auxiliando também no processo de detoxicação e inativação de compostos que possam ser tóxicos ao organismo animal (CARDOSO, 2008).

O nível de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente. Para a detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

A hipoalbuminemia nem sempre é identificada, pois, os processos hemostáticos operam no sentido de minimizar as alterações na sua concentração plasmática. Pode ser consequência de absorção deficiente de proteínas, síntese deficiente de albumina, excessiva degeneração protéica ou, perda de albumina. Animais parasitados frequentemente apresentam queda nos valores de albumina sérica (CARDOSO, 2008).

A albumina pode estar diminuída no dano hepático crônico, no déficit alimentar de fontes protéicas, no parasitismo gastrointestinal, na doença renal (síndrome nefrótica, glomerulonefrite crônica, diabetes), na síndrome da má absorção, em hemorragias e na sobreidratação iatrogênica (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002). O fígado é o único sítio de síntese de albumina e a hipoalbuminemia é uma importante característica de doença hepática crônica (KANEKO et al., 1997).

A hipoalbuminemia pode afetar o metabolismo de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportador, além de causar queda da pressão osmótica do plasma e levar a ascite, geralmente quando a concentração de albumina cai para menos de 20 g/L. A albumina pode estar aumentada na desidratação e na perda excessiva de fluídos (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

Parte das globulinas que participam do sistema imune é sintetizada nos tecidos linfóides, enquanto outra porção é sintetizada no fígado. Dentre as globulinas, destacam-se as imunoglobulinas e as proteínas do sistema complemento. As imunoglobulinas são

constituídas principalmente por anticorpos produzidos através da resposta imune específica ao antígeno.

A baixa concentração de albumina e o aumento da concentração de gamaglobulina têm sido associados à insuficiência hepática crônica (HOWARD et al., 2008). A insuficiência hepática pode resultar em menor síntese, portanto, em menor concentração sérica de globulina (BUSH, 2004; THRALL, 2007).

O índice albumina:globulina, quando diminuído, pode indicar hipoalbuminemia ou hiperglobulinemia; e quando aumentado indica a hipoglobulinemia, característica em alguns animais, como o bezerro e o potro, antes da ingestão do colostro (KANEKO ET AL., 1997, FELDMAN et al., 2000). Na insuficiência hepática, há menor proporção albumina:globulina (BUSH, 2004; THRALL, 2007).

As concentrações de globulinas podem estar aumentadas em casos de hepatopatia crônica, como na cirrose hepática (THRALL, 2007), e nas doenças mediadas pelo sistema imune, como nas gamopatias poli e monoclonais, e podem estar diminuídas nas imunodeficiências associadas à deficiências nos linfócitos B, principalmente nos casos de hipogamaglobulinemia (TIZARD, 2009).

A uréia é sintetizada no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo de aminoácidos. Os níveis de uréia são analisados em relação ao nível de proteína na dieta e ao funcionamento renal. A uréia é excretada principalmente pela urina e, em menor grau, pelo intestino. Na maioria dos animais, o nível de uréia é indicador de funcionamento renal (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

A uréia no seu ciclo incorpora duas moléculas de amônia, cuja principal fonte provém do catabolismo protéico (FINCO, 1997). Sua dosagem deve ser realizada sempre que houver suspeita de redução do funcionamento renal (CARDOSO, 2008). As mudanças nas concentrações da uréia no sangue podem ocorrer devido à dieta do animal, às alterações no fígado e nas funções renais e à mudança na taxa do catabolismo da proteína (FINCO, 1997).

O aumento plasmático da uréia pode ser por causas pré-renais, que antecede a filtração ou por causas pós-renais, como na obstrução urinária. A concentração de uréia está aumentada na falha cardíaca, no choque hipovolêmico, na hipotensão, na desidratação e nas doenças renais. A diminuição plasmática da uréia ocorre em insuficiência hepática (com aumento de amônia), na síndrome da má absorção, na sobredratação e em dietas com nível baixo de proteínas (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

A creatinina plasmática é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo de creatina presente no tecido muscular. A creatina é um metabólito utilizado para armazenar

energia no músculo, na forma de fosfocreatina, e sua degradação para creatinina ocorre de maneira constante, em torno de 2% do total de creatina diariamente. A excreção de creatinina só se realiza por via renal, uma vez que ela não é reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo. Por isso, os níveis de creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que níveis altos de creatinina indicam uma deficiência na funcionalidade renal (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002).

A creatinina é uma substância nitrogenada não-protéica (FINCO, 1997), excretada pela filtração glomerular, e qualquer anormalidade que diminua a velocidade do fluxo urinário resulta na elevação da sua concentração sérica. As concentrações de creatinina estão aumentadas quando do fluxo renal reduzido, na hipotensão, na desidratação, em doenças renais, na obstrução urinária, na síndrome hepato-renal, no dano muscular e no exercício intenso e estão diminuídas na insuficiência hepática, na sobreidratação e nas miopatias (CARDOSO, 2008).

Os resultados obtidos na enzimologia diagnóstica, juntamente com outros dados clínicos e laboratoriais, são importantes para a compreensão do mecanismo indutor da doença e do diagnóstico (BAKER et al., 2007).

Entre as enzimas, cujas concentrações séricas devem ser determinadas quando de disfunções musculares estão a aspartato aminotransferase (AST) e creatina fosfocinase (CK) (DA CÁ S et al., 2001).

A atividade global de determinadas enzimas musculares pode ser usada para avaliar a atividade metabólica. A atividade dessas enzimas é utilizada como indicador da capacidade metabólica do músculo, e durante a atividade física prolongada, como corridas de resistência, o metabolismo oxidativo tem um papel importante pela utilização de carboidratos e lipídios (CARDOSO, 2008), sendo possível que a importância relativa dessas variações metabólicas, em cada indivíduo, resulte em um rendimento competitivo diferente (RIVERO et al., 1998).

O exercício pode liberar quantidades de enzimas suficientes para aumentar os valores séricos das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e desidrogenase láctica (LDH). Eventuais lesões musculares podem ser verificadas através da aferição da atividade de AST, CK e LDH, embora esta última seja menos específica. A elevação da atividade destas enzimas pode ser conferida em equinos com sinais de rabdomiólise. Alguns estudos associam o aumento da atividade enzimática à prática de exercícios intensos (STOCKHAN, 1995; ROSE e HODGSON, 1994; KANEKO et al., 1997).

O aumento da atividade enzimática sérica pode decorrer de extravasamento ou indução da enzima. O extravasamento celular de enzimas é provocado por lesão de células.

As enzimas de importância diagnóstica que passam para o espaço extracelular e, em seguida, para o soro por meio desse mecanismo são denominadas enzimas de extravasamento. As enzimas de extravasamento estão presentes no citosol, em organelas ou em ambos. Essas enzimas saem das células quando há lesão da membrana celular e, em alguns casos, de organelas. A lesão pode ser tão grave a ponto de causar a morte celular (necrose), ou ser uma lesão discreta subletal que simplesmente provoque extravasamento da membrana celular. Como esse processo não requer aumento de produção da enzima, pode ocorrer muito rapidamente e o aumento pode ser detectado até horas após a lesão (BAKER et al., 2007).

AST é uma enzima de transferência de um grupo amina de um aminoácido para um cetoácido, catalisa a transaminação reversível da L-aspartato e alfa-cetoglutarato, a oxalacetato e glutamato (CALLRSON, 2006). Tem ampla distribuição tissular, presente em pequenas quantidades no soro, como consequência direta de destruição tecidual fisiológica e subsequente liberação enzimática. Tendo em vista que essa enzima exerce sua função principal no interior das células, os aumentos observados no soro são frequentemente reflexos da destruição celular ou doença (CARDOSO, 2008).

AST é uma enzima citoplasmática e mitocondrial, presente em vários tecidos como fígado, músculo esquelético e cardíaco (CARDOSO, 2008). Em todas as espécies domésticas, a atividade AST é alta no fígado, portanto na lesão hepática aguda ou crônica a atividade sérica de AST está elevada. Segundo Cardinet (1997), essa enzima também tem sido usada como auxílio diagnóstico em alterações musculares dos animais domésticos. Os equinos podem apresentar aumento nos valores de AST, em consequência da miopatia ou lesão hepática, e a principal razão para se incluir AST no perfil bioquímico de equinos é a tentativa de detectar doença hepatocelular (SANTOS et al., 2008). As mais elevadas concentrações da AST estão localizadas nas células musculares esqueléticas e nos hepatócitos (MEYER et al., 1995).

ALT é uma enzima responsável por catalisar a reação da transaminação dos esqueletos de carbono, dessa maneira o alfaceto glutarato do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) é transaminado pelo ácido glutâmico que aceita o grupamento amino da alanina que se transforma em piruvato. (CARDOSO, 2008). ALT ocorre em tecidos com metabolismo de aminoácidos ativo, como o fígado, rins, músculo esquelético e miocárdio. Em geral, a ALT pode ser considerada uma enzima indicadora de lesão hepática em primatas, cães, gatos, coelhos e ratos (SCHEFFER e GONZÁLEZ, 2006). Nesses animais, aumento da atividade sérica dessa enzima indica uma lesão celular liberando-a para a circulação. Pequenos aumentos da sua atividade não têm relevância, pois o grau da lesão hepática é responsável pelo aumento da

atividade da ALT (THRALL, 2007). No entanto, em suínos, equinos, bovinos, ovinos e caprinos, ALT tem pouco valor diagnóstico, uma vez que é encontrada em concentrações muito baixas no fígado dessas espécies (SANTOS et al., 2008).

3. JUSTIFICATIVA

Justifica-se a realização deste trabalho devido à necessidade de avaliação dos equinos utilizados em vaquejada, possibilitando maior conhecimento científico sobre cavalos utilizados nessa modalidade esportiva. Situações de estresse possibilitam o aparecimento de infecções virais que, além do quadro clínico, provocam manifestações que repercutem nos parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos desses animais. A avaliação do título de anticorpos de animais não expostos previamente a esquemas de vacinação contra este vírus torna-se relevante, para demonstrar evidências da presença do EHV, bem como traçar um perfil hematológico e bioquímico sérico, uma vez que não existem relatos científicos locais sobre os dados a serem pesquisados.

4. HIPÓTESE CIENTÍFICA

Os equinos utilizados em vaquejada, oriundos da região metropolitana de Fortaleza, apresentam parâmetros hematológicos, bioquímicos alterados e dados sorológicos que confirmam a presença do EHV na região.

5. OBJETIVOS

Objetivo geral:

O presente trabalho objetivou determinar o título de anticorpos contra o herpesvírus equídeo (EHV-1/EHV-4) e avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas de equinos utilizados em vaquejada na região metropolitana de Fortaleza, Ceará.

Objetivos específicos:

1. Titular anticorpos anti-EHV de equinos utilizados em vaquejada e mantidos na região metropolitana Fortaleza.
2. Avaliar o perfil hematológico de equinos utilizados em vaquejada e mantidos na região metropolitana Fortaleza.
3. Determinar perfil bioquímico de equinos utilizados em vaquejada e mantidos na região metropolitana Fortaleza.

6. CAPÍTULO I

ARTIGO

EVIDÊNCIAS SOROLÓGICAS DE HERPESVÍRUS EQUÍDEO EM CAVALOS DE VAQUEJADA NA REGIÃO METROPOLITANA DE FORTALEZA, CEARÁ, BRASIL

Artigo submetido à revista Acta Scientiae Veterinarie

Marcio Gomes de Alencar-Araripe^{1*}; Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro¹; Débora Castelo-
Branco de Souza Collares Maia²; Abelardo Silva Júnior³

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Av. Paranjana, 1700, Campus do Itaperi. CEP: 60.740-002, Fortaleza-CE, Brasil. E-mail: marcio.araripe@yahoo.com.br e diana@uece.br

² Programa de Pós-graduação em Microbiologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Rua Coronel Nunes de Melo, s/n, Rodolfo Teófilo. CEP: 60430-270, Fortaleza-CE, Brasil.

³ Laboratório de Infectologia Molecular Animal, Instituto de Biotecnologia Aplicada (Bioagro), Laboratório de Virologia Animal, Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Av. Ph Rolfs S/N, Viçosa, MG, 36570-000, Brasil.

EVIDÊNCIAS SOROLÓGICAS DE HERPESVÍRUS EQUÍDEO EM CAVALOS DE VAQUEJADA NA REGIÃO METROPOLITANA DE FORTALEZA, CEARÁ, BRASIL

Resumo

O Brasil possui o terceiro maior rebanho equino do mundo. No nordeste brasileiro, existem mais de 1,4 milhão de animais, estando 140 mil localizados no estado do Ceará. Grande parte desses cavalos é destinada à prática de esportes. A vaquejada é o esporte equestre mais popular e com maior número de praticantes em todo o nordeste brasileiro. Nesse esporte é comum o deslocamento interestadual de animais. As vaquejadas são frequentes e muitos animais participam semanalmente dessas competições. A alta concentração de animais e o baixo controle sanitário nesses locais podem levar a uma intensa exposição dos animais a novos patógenos. As viroses possuem elevada importância sanitária e econômica na equideocultura mundial, destacando-se as herpesvíroses. No Brasil, pouca ênfase tem sido dada às pesquisas sobre esta enfermidade, havendo uma carência de dados epidemiológicos, principalmente no Ceará. Com isso, objetivou-se determinar o título de anticorpos contra o herpesvírus equídeo (EHV-1/EHV-4) de animais não vacinados na região metropolitana de Fortaleza, Ceará. Para a realização do trabalho, foram utilizados 68 animais utilizados em vaquejada provenientes de propriedades particulares, localizadas na região metropolitana de Fortaleza, Ceará. Os equinos foram avaliados clinicamente e todos os achados foram descritos em fichas individuais. Em seguida, foram submetidos à venopunção da jugular para a coleta de sangue em tubos sem anticoagulante e após a retração do coágulo foi realizada a centrifugação para obtenção de soro. As alíquotas de soro foram armazenadas a -20°C para uso posterior. Para tanto, as amostras de soro foram descongeladas e inativadas em banho maria a 56°C por 30 minutos. Os títulos de anticorpos contra EHV foram determinados por meio da técnica de soroneutralização com a utilização de células VERO, em cultura estéril

com meio essencial mínimo - MEM, adicionado de soro fetal bovino. As culturas foram mantidas e incubadas em estufa a 37°C e 5% de CO₂ e replicadas a cada 72 horas, usando tripsina a 37°C, para deslocar a monocamada. Uma alíquota de 200 µl DIC50/50 do herpesvírus equídeo 1 foi adicionada, em diluição seriada do soro (fator de diluição 2), variando de 1:2 a 1:128. Após a incubação da mistura soro-vírus por 90 minutos, a 37°C, em câmara de CO₂, 50 µL da suspensão de células VERO, na concentração de 300.000 células/mL foram adicionados. A leitura dos resultados foi realizada após 72 horas de incubação, por meio do monitoramento do efeito citopático nos cultivos celulares. O título neutralizante foi considerado de acordo com a maior diluição capaz de prevenir a produção de efeito citopático. Dos 68 soros avaliados, 28 (41,2%) demonstraram resultados positivos, enquanto que 40 (58,8%) foram negativos para o teste, com título médio geométrico de 7,29. Esses resultados demonstram a circulação do EHV-1 e/ou EHV-4 na região metropolitana de Fortaleza, Ceará. Outros estudos devem ser realizados no estado para conhecimento e orientação sobre a manutenção da saúde em animais praticantes do esporte de vaquejada.

Descritores: Equinos, vaquejada, herpesvírus equídeo, sorologia.

Abstract

Brazil presents the third biggest equine herd of the world. In the Northeastern region of this country, there are more than 1.4 million of animals, out of which 140,000 are found in the state of Ceará. A great proportion of these animals is used for the practice of sports. Vaquejada is the most popular equestrian sport and the one with the greatest number of practitioners in the Northeast. In this sport, transporting animals from one state to another is very common. Vaquejada competitions are frequent and many animals participate in these events, at least, once a week. The high concentration of animals and low sanitary control, during vaquejada events, may lead to an intense exposure of animals to many different pathogens. Viroses represent a relevant sanitary and economical concern for world equineculture, especially herpesviroses. In Brazil, little attention has been given to researches on herpesvirus infections and there is a lack of epidemiological data, especially in the state of Ceará. Thus, this work aimed at determining antibody titers against equid herpesvirus (EHV-1 / EHV-4) of unvaccinated horses from the Metropolitan region of Fortaleza, state of Ceará. For such, 68 vaquejada horses, from private farms in the metropolitan region of Fortaleza, Ceará, were assessed. All horses were clinically evaluated and all findings were described in individual records. Then, blood was drawn from animals' jugulars, into slants with no anticoagulant and, after clot retraction, all samples were centrifuged for the obtention of serum samples. Serum aliquots were stored at -20 °C, until processing. Before starting serological analyses, serum samples were unfrozen and inactivated in baths at 56 °C, for 30 minutes. Antibody titers against EHV were determined by serum neutralization technique, using VERO cells in sterile cultures with minimum essential medium (MEM), supplemented with bovine calf serum. Cultures were maintained and incubated at 37 °C, with 5% CO₂ and replicated each 72 hours, by using trypsin, at 37°C, in order to separate the monolayer. Aliquots of 200 µL of DICC50/50 equid herpevirus-1 was added, with a serial dilution of

serum (dilution factor 2), ranging from 1:2 to 1:128. After incubating serum-virus mixture for 90 minutes, at 37 °C, in CO₂ chamber, 50 µL of VERO cell suspension, at a concentration of 300,000 cell/mL, were added. Results were read after 72 hours of incubation, through monitoring of cytopathic effects on cell cultures. Neutralizing titers were considered to be the highest dilution that was capable of preventing the production of cytopathic effects. Out of 68 evaluated sera, 28 (41.2%) showed positive results, while 40 (58.8%) were negative for the test, with a mean geometric titer of 7.29. These results show the presence of EHV-1 and/or EHV-4 in the metropolitan region of Fortaleza, State of Ceará. Other studies must be performed in the State and in the Northeastern region, in order to obtain more knowledge on maintaining animal health, especially for those animals that practice vaquejada.

Keywords: Equines, vaquejada, herpesvirus, serum neutralization.

Introdução

As viroses possuem elevada importância sanitária na equideocultura mundial, destacando-se as infecções herpéticas [7,24]. Os herpesvírus equinos (EHV) são vírus DNA envelopados, pertencentes à família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae*, gênero *Varicellovirus*. Dentre os herpesvírus destacam-se o EHV-1 e EHV-4 [2,3,19]. EHV-1 causa aborto, doença neonatal, doença respiratória e doença neurológica, enquanto o EHV-4 causa doença respiratória e aborto. EHV tem como características a manutenção da infecção de forma latente e apresentar como principal fonte de infecção as secreções nasais [10,12,23].

No Brasil, o primeiro isolamento do EHV foi descrito em 1966 [22]. A ocorrência de abortos causados pelo EHV-1 foi notificada em Minas Gerais [5], São Paulo [22] e evidências sorológicas de EHV-1 foram relatados no Rio Grande do Sul [31] e no Pará [11, 25].

Os equinos existentes na Região Metropolitana de Fortaleza são, em sua maioria, utilizados para a prática de esportes. Dentre esses esportes, destaca-se a vaquejada, por sua popularidade e pelo grande número de praticantes em todo o nordeste brasileiro, sendo comum o deslocamento interestadual de animais. As vaquejadas são frequentes e muitos animais participam semanalmente dessas competições. Tem sido observados nos parques de Vaquejada, alta concentração de animais e baixo controle sanitário que podem levar a uma intensa exposição dos animais a novos patógenos.

Na tentativa de encontrar evidências da presença do EHV, objetivou-se determinar o título de anticorpos contra o herpesvírus equídeo (EHV-1/EHV-4) de animais de vaquejada não vacinados na região metropolitana de Fortaleza, Ceará.

Material e Métodos

Foram utilizados 68 equinos (*Equus caballus*), machos, com idade entre 3 e 15 anos, de diversas raças, provenientes de propriedades particulares localizadas na região

metropolitana da cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. Fortaleza situa-se numa planície litorânea, logo abaixo da linha do Equador, com latitude sul de 3°43'02" e 38°32'35" de longitude oeste e a 16 m de altitude. A temperatura média anual oscila entre 26 e 28°C, e a umidade relativa do ar situa-se em torno de 82% e pluviosidade média de 1.338 mm anuais [13].

Os equinos foram avaliados, individualmente, quanto às condições gerais do paciente, ao escore corporal, ao aspecto da pelagem, à higiene do local onde vivem, à alimentação, ao fornecimento de sal mineral, à temperatura retal, às frequências cardíacas e respiratórias e à presença de alterações clínicas evidentes. Foram preenchidas fichas de avaliação individual, as quais continham todas as informações colhidas. Não foram encontradas alterações dignas de nota.

Foram colhidas amostras de sangue dos 68 equinos através da venopunção da jugular, com agulhas 21G apropriadas para tubos com vácuo, sem anticoagulante. Posteriormente foram centrifugadas por dez minutos em centrífuga clínica a 4.000 rpm, para obtenção de soro. Os soros foram estocados a -20°C até o momento dos exames laboratoriais [1,16,25]. As amostras de soro foram inativadas em banho maria a 56°C por 30 min. Os soros inativados foram utilizados para a realização da técnica de soroneutralização (SN) para detecção de anticorpos contra o EHV-1.

A SN, técnica adaptada de House e Baker (1971), foi realizada com a utilização de células VERO (células de rim de macaco verde africano), em cultura estéril com meio essencial mínimo - MEM (GIBCO), adicionado 5% de soro fetal bovino. As culturas foram mantidas e incubadas em estufa a 37°C e 5% de CO₂ e replicadas a cada 72 horas, usando tripsina a 37°C, para deslocar a monocamada. Uma alíquota de 200 µl DICCC50/50 EHV-1 (Laboratório de Virologia da Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Santa Maria) foi adicionada, em diluição seriada do soro (fator de

diluição 2), variando de 1:2 a 1:128. Após a incubação da mistura soro-vírus por 90 min, a 37°C, em câmara de CO₂, 50 µL da suspensão de células VERO, na concentração de 300.000 células/mL foram adicionados. A leitura dos resultados foi realizada após 72 h de incubação, por meio do monitoramento do efeito citopático (ECP) nos cultivos celulares. O título neutralizante foi considerado de acordo com a maior diluição capaz de prevenir a produção de ECP [7].

Este projeto foi desenvolvido após aprovação pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Ceará com o protocolo n° 09232603-0/70, tendo respeitado e seguido todos os princípios éticos recomendados quanto à utilização de animais em experimentos.

Resultados

Os resultados do teste de soroneutralização estão dispostos na tabela 1. Dos 68 soros avaliados, 28 (41,2%) neutralizaram a ação do EHV-1 *in vitro*, enquanto que 40 (58,8%) foram negativos para o teste. O título médio geométrico foi de 7,29.

Figura 1: Total de positivos e negativos no teste de soroneutralização para EHV-1 em equinos de vaquejada da região metropolitana de Fortaleza, Ceará.

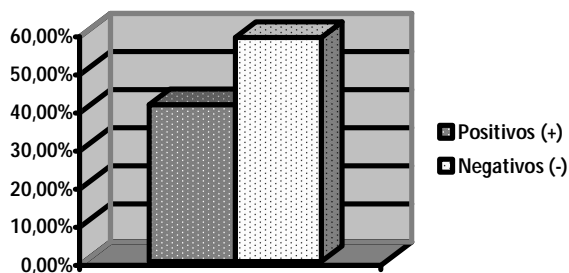


Tabela 1: Soroneutralização para EHV-1 em equinos de vaquejada da região metropolitana de Fortaleza, Ceará.

Título	Nº de animais	Porcentagem
0	40	58,8 %
2	8	11,76 %
4	9	13,24 %
8	7	10,29 %
16	2	2,94 %
32	2	2,94 %
64	0	0 %
128	0	0%
Total de positivos	28	41,2 %

Discussão

A idade média dos equinos adultos e machos em estudo foi de 7 anos e o título médio geométrico foi de 7,29 para EHV. A idade torna-se um fator determinante para o aumento da prevalência da infecção, provavelmente relacionada a uma maior probabilidade de o animal entrar em contato com o vírus. As fontes mais comuns de infecção por EHV-1 e 4 são animais adultos, porque eles podem excretar o vírus nas secreções nasais após a reativação de infecções latentes [26]. Levando-se em conta que o macho é utilizado para o melhoramento genético do rebanho, entrando em contato com diversas fêmeas, ele sendo contaminado, torna-se um possível propagador do vírus, disseminando-o, trazendo sérias repercussões sanitárias.

Segundo informações dos proprietários nenhum animal foi vacinado contra EHV. Nossos resultados evidenciam a existência do vírus em animais da região metropolitana de Fortaleza, Ceará. Considerando que as espécies EHV-1 e EHV-4 são antígenicamente relacionadas [27,29], vale ressaltar que o teste de diagnóstico utilizado, por meio da soroneutralização, não diferencia os anticorpos detectados quanto ao tipo viral. Esse fato deve ser levado em consideração, devido a possíveis infecções pelo EHV-4 na população estudada, visto que o EHV-4 já foi descrito no Brasil, em equinos do Estado de São Paulo [21]. Assim, as amostras de soro reagentes para EHV-1 identificados neste estudo poderiam ser, alternativamente, reativas a EHV-4.

A provável explicação para a maior frequência de amostras com baixo título de anticorpos (2 e 4) pode ser atribuída ao mecanismo de latência desenvolvido por esse agente. A criação deste mecanismo permite a persistência do vírus, mesmo em um rebanho fechado, em animais portadores que podem, eventualmente, eliminar o vírus, após a estimulação adequada. A elevada percentagem de animais com baixo título de anticorpos pode indicar a

presença de anticorpos residuais, produtos de infecção primária antiga ou reativação viral [15].

Em nosso trabalho, 41,2% dos soros avaliados foram EHV-1 positivos. No Brasil, estudos realizados em São Paulo, encontraram 17,6% das amostras positivas [20]. Em um estudo sorológico realizado em rebanhos com problemas reprodutivos no Rio Grande do Sul, foram detectados 84,7% de positividade entre as 348 amostras testadas para o EHV-1, com título médio geométrico de 1:5, utilizando a prova de soroneutralização [30,32]. Vários estudos têm estimado taxas de soroprevalência em diferentes países, variando de 8 a 85,2% [8,9,14].

Em 1993, foi realizado um estudo pela EMBRAPA/CPAP, com a cooperação do Animal Health Institute da Inglaterra, com 50 equinos, incluindo animais que apresentavam sintomatologia respiratória, o qual demonstrou 36% dos animais positivos para o EHV-1 e 58% dos animais positivos para o EHV-4 [28]. A prevalência de 17,71% de equinos soropositivos observada por Heinemann et al., [11] aproxima-se dos dados obtidos por Dias [6], que observou 21,70% e 13,18% de animais soropositivos na Ilha de Marajó e no resto do Estado do Pará, respectivamente. No estado do Rio Grande do Sul, foram analisados 1.506 soros dos quais 4,5% foram positivos [7]. No Paraná, um estudo realizado nas cidades de Curitiba e de São José dos Pinhais, demonstrou que 4,1% dos cavalos foram positivos para EHV-1 [17].

O presente estudo utilizou somente equinos clinicamente hígidos e utilizados na prática da vaquejada, esporte amplamente difundido no nordeste brasileiro. Estudos realizados com equinos utilizados em vaquejadas relatam a ocorrência de alterações físicas, bioquímicas e hematológicas em decorrência do estresse associado ao exercício físico, à falta de treinamento adequado e às condições ambientais inóspitas dos parques de vaquejada [18]. A

presença de um grande número de equinos de diversas procedências mantendo contato próximo pode expor os indivíduos a uma série de novos patógenos.

O tipo de atividade desenvolvida pelas diferentes espécies e o frequente deslocamento pode explicar a hipótese de os equinos serem mais suscetíveis [4]. Trabalhos sugeriram que os animais que são frequentemente transportados para participação em eventos estão continuamente expostos ao risco de infecção, devido ao contato com outros animais [7].

Conclusão

Os equinos utilizados em vaquejada na Região Metropolitana de Fortaleza apresentam evidências sorológicas da presença do herpesvírus equídeo. Contudo, outros estudos devem ser realizados no estado para conhecimento e orientação sobre a manutenção da saúde em animais praticantes do esporte de vaquejada. Considerando a importância da equideocultura é essencial alocar recursos para promover políticas de saúde para combater este vírus, tornando a vacinação imprescindível à sanidade animal.

Agradecimento

Agradecemos ao Laboratório de virologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV) pela parceria e excelência em virologia. Esse estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências

1. **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. 2008.** 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* 45(4):269-276.
2. **Ardans A.A. 2003.** Herpesviridae. *In:* Hirsh D.C. & Zee Y.C. (Eds) *Microbiologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp.327-330.
3. **Ataseven V.S., Bilge-Dalp S., Basaran Z. & Keskin S. 2010.** Seroepidemiological studies of equine herpesviruses 1 (ehv-1) and 4 (ehv-4) infections in working horses from the eastern Turkey, Ankara. *Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 57:39-42.
4. **Ataseven V.S., Dagalp S.B., Guzel M., Basaran Z., Tan M.T. & Geraghty B. 2009.** Prevalence of equine herpesvirus-1 and equine herpesvirus-4 infections in equidae species in Turkey as determined by ELISA and multiplex nested PCR. *Research in Veterinary Science* 86:339–344.
5. **Carvalho F.S.R., Coelho H. E. & Bedaque, M. 1991.** Aborto equino por herpesvirus equi 1. *Revista do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia* 7:45-47.
6. **Dias H.L.T. 2000.** Soroepidemiologia de cinco enfermidades infecciosas em equinos criados no estado do Pará. 147f. Belém, PA. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) – Programa de Doutorado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará.

7. **Diel D.G., Almeida S.R., Weiblen R., Frandoloso R., Anziliero D., Kreutz L.C., Groff F.H.S., & Flores E.F. 2006.** Prevalência de anticorpos contra os vírus da influenza, da arterite viral e herpesvirus em equinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*. 36(5):1467-1673.
8. **Gilkerson J.R., Love D.N., Drummer H.E., Studdert M.J. & Whalley J.M. 1998.** seroprevalence of equine herpesvirus 1 in thoroughbred foals before and after weaning. *Australian Veterinary Journal*. 76:677-682.
9. **Gilkerson J.R., Whalley J.M., Drummer H.E., Studdert M.J. & Love D.N. 1999.** Epidemiology of EHV-1 and EHV-4 in the mare and foal populations on a hunter valley stud farm: are mares the source of EHV-1 for unweaned foals. *Veterinary Microbiology*. 68:27-34.
10. **Harless W. & Pusterla N. 2006.** Equine herpesvirus 1 and 4 respiratory disease in the horse. *Clinical Techniques in Equine Practice*. 5(3):197-202.
11. **Heinemann M.B., Cortez A., Souza M.C.C., Gotti T., Ferreira F., Homem V.S.F., Ferreira Neto J.S., Soares R.M., Sakamoto S.M., Cunha E.M.S. & Richtzenhain L.J. 2002.** Soroprevalência da anemia infecciosa equina, da arterite viral dos equinos e do aborto viral equino no município de Uruará, PA, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 39(1):50-53.
12. **Henninger RW., Reed S.M., Saville W.J., Allen G.P., Hass G.F., Kohn C.W. & Sofaly C. 2007.** Outbreak of neurologic disease caused by equine herpesvirus-1 at a university equestrian center. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 21:157-165

13. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).** *Pesquisa Pecuária Municipal*, 2008. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acessado em 06/2010.
14. **Keane D.P., Little P.B., Wilkie B.N., Artsob H. & Thorsen J. 1988.** Agents of equine viral encephalomyelitis: correlation of serum and cerebrospinal fluid antibodies. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 52(2):229-235.
15. **Kydd J.H., Townsend H.G. & Hannant D. 2006.** The equine immune response to equine herpesvirus-1: the virus and its vaccines. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 111:15-30.
16. **Lara M.C.C.S.H., Cunha E.M.S., Nassar A.F.C., Gregory L., Birgel E.H. & Fernandes W.R. 2003.** Ocorrência do herpesvírus equídeo 1 (hve-1) em cavalos criados no estado de São Paulo, Brasil. *Ars Veterinaria*. 19(3):254-259.
17. **Lara M.C.C.S.H., Furman K.E., Barros Filho I.R., Villa Lobos E.M.C., Cunha E.M.S., Deconto I., Bonacim J., Uttime R.A. & Biondo A.W. 2006.** Detection of antibodies against equine viral arteritis virus (evav) and equine herpesvirus type 1 (ehv-1) in cart horses from Curitiba and surroundings, southern Brazil. *Archives of Veterinary Science*. 11:11-14.
18. **Lopes K.R.F., Batista J.S., Dias R.V.C. & Soto-Blanco B. 2009.** Influência das competições de vaquejada sobre os parâmetros indicadores de estresse em equinos. *Ciência Animal Brasileira*. 10(2):538-543.
19. **Maxie M.G. & Youssef S. 2007.** Nervous system. In: Maxie M.G. (Org.) *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 5.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, pp.281-457.

20. **Mondolo J.R., Petzoldt K., Gotts-Chalk A.F., Margatho L.F.F., Forlin W. & Carreira E.L.C. 1989.** Investigação sorológica do herpesvirus equi-1 em equinos pelo teste de fixa o do complemento, considera es sobre seu uso na saúde do haras. *A Hora Veterinária*. 8:25-27.
21. **Mori E., Castro A.M.M.G., Lara M.C.C.S.H., Cunha E.M.S. Villalobos E.M.C., Asano K.M., Guirao M.P., Brandao P.E. & Richtzenhain L.J. 2008.** Occurrence of equid herpesvirus (EHV-1) and (EHV-4) infections in asymptomatic equid population in São Paulo State, Brazil. In: Anais XIX National Meeting of Virology. *Virus Reviews & Research: Journal of The Brazilian Society For Virology*. (Minas Gerais, Brasil),p101.
22. **Nilson M.R. & Corrêa, W.M. 1966.** Isolamento do vírus do aborto equino no estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*. 33:23-35.
23. **Paradis M.R. 2006.** Vírus respiratórios de equinos. In: Smith B.P. *Medicina Interna de Grandes Animais*. 3.ed. São Paulo:São Paulo. pp.510-511.
24. **Patel J.R. & Heldens J. 2005.** Equine herpesv ruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4)--epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review. *Veterinary Journal*. 170(1):14-23.
25. **Pena L.J., Pena D.A., Barrios P.R., Dale R., Almeida M.R. & Moraes M.P. 2006.** Levantamento soro-epidemiológico da infec o pelo vírus da anemia infecciosa equina, da influenza equina-2 e do herpesvírus equino-1 em rebanhos do sul do estado do Pará, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 43(4):537-542.

26. **Reed S.M. & Toribio R.E. 2004.** Equine herpesvirus 1 and 4. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice.* 20:631–642.
27. **Sabine M., Robertson G.R. & Whalley J.M. 1981.** Differentiation of sub-types of equine herpesvirus 1 by restriction endonuclease analysis. *Australian Veterinary Journal.* 57:148-149.
28. **Soriano B.M.A., Oliveira H., Catto J.B., Comastri-Filho J.A., Galdino S., Salis S.M. 1997.** Plano de utilização da fazenda Nhumirim. Corumbá. In: Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal - EMBRAPA-CPAP Documento 21, 72p.
29. **Studdert M.J., Simpson T. & Roizman B. 1981.** Differentiation of respiratory and abortigenic isolates of equine herpesvirus 1 by restriction endonucleases. *Science.* 214(4520):562-564.
30. **Vargas, A. C.; Weiblen, R. 1991.** Antibody prevalence against equine herpesvirus type 1 (EHV 1) in some counties of Rio Grande do Sul state. *A Hora Veterinária.* 10(59):5-8.
31. **Weiblen R., Rabuske M., Rebelatto M.C., Nobre V.M. & Canabarro T.F. 1994.** Abortion due to equine herpesvírus in southern Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 27(6):1317-1320.
32. **Weiblen R. 2001.** Herpesvírus equino. In: Riet-Correa F. et al. (Eds) *Doenças de ruminantes e equinos.* São Paulo: Varela, 1:108-113.

7. CAPÍTULO II

ARTIGO

HEMATOLOGIC AND BIOCHEMICAL PROFILE OF HORSES USED FOR THE PRACTICE OF VAQUEJADA IN CEARÁ, BRAZIL

Running title: Laboratory investigation of vaquejada horses

Artigo submetido à revista *Veterinary Clinical Pathology*

Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro^{1*}; Marcio Gomes de Alencar-Araripe¹; Débora Castelo-
Branco de Souza Collares Maia²; Michelle Costa-e-Silva³; Christiane Myrta de Oliveira
Medeiros³; Aline Viana Dias³

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Av. Paranjana, 1700, Campus do Itaperi. CEP: 60.740-002, Fortaleza-CE, Brasil. * Corresponding author e-mail: diana@uece.br

² Programa de Pós-graduação em Microbiologia Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Rua Coronel Nunes de Melo, s/n, Rodolfo Teófilo. CEP: 60430-270, Fortaleza-CE, Brasil.

³ LAFORVET - Centro de Medicina Laboratorial Veterinária, Rua Joaquim Torres, 941, Joaquim Távora. CEP 60135-130, Fortaleza-CE, Brasil.

HEMATOLOGIC AND BIOCHEMICAL PROFILE OF HORSES USED FOR THE PRACTICE OF VAQUEJADA IN CEARÁ, BRAZIL

ABSTRACT

The practice of vaquejada is very popular in Northeastern Brazil and most horses that are kept in the City of Fortaleza are used for this purpose. Vaquejada is a very strenuous sport and routine laboratory investigation would be of great value in order to monitor the development and the performance of these animals. The aim of this work was to evaluate hematologic and biochemical alterations in horses from the Metropolitan Region of Fortaleza, Ceará, Brazil, which were used for the practice of vaquejada. Blood samples were collected from 68 adult male horses, through venipuncture of the jugular vein, in tubes containing EDTA, which were used for the performance of complete blood count (CBC), and without anticoagulant, which were used for dosing serum urea (U), creatinine (Crea), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and total protein (TP) and its fractions. The red blood cell counts ranged from 3,650,000 to 9,640,000 cells/mm³, hemoglobin concentration varied from 6.1 to 15.6 g/dL and PCV varied from 18 to 44%. White blood cell counts varied from 3,700 to 11,700 cells/ mm³. Platelet counts ranged from 116,000 to 423,000 cells/ mm³. The most commonly observed alteration in CBC was leucopenia (23.5%). Almost no significant alterations were observed in the mean values of all analyzed serum biochemical parameters, except for albumin:globulin ratio, which ranged from 0.72 to 2.28. It can be concluded that the studied equines presented biochemical and hematologic alterations.

Keywords: *Equus caballus*, vaquejada, biomarkers, hematologic parameters, biochemical parameters.

INTRODUCTION

Equines have accompanied and helped the development of human kind for a long time, until current days. This close relationship has led to the use of this animal in rural activities and to the development of many modalities of equestrian sports. In these competitions, a distinct treatment is required for the athletes of each modality, which varies in duration, speed, strength and agility.

The horses that inhabit the Metropolitan Region of the city of Fortaleza are mostly used for sports. Among these sports, vaquejada should be highlighted because of its popularity and its great number of practitioners throughout Northeastern Brazil. Vaquejada competitions are frequent and long, lasting up until four days, and many animals compete every week. It is a strenuous sport, even for individuals with great physical preparation, and the horses may present decrease in performance throughout the competition.

Even though, most of these animals have regular veterinary assistance, they are exposed to infectious-contagious diseases and zoonosis, due to the elevated concentration of horses and the lack of sanitary control, during the competitions.

Thus, routine clinical evaluation, including laboratory exams, would be of great value in order to monitor the development and the performance of these animals. The diversity of information provided by hemograms makes such exam the most commonly performed in clinical and surgical practice¹. Serum biochemical exams are also frequently run as a clinical aid, including total plasmatic proteins and fractions, AST, ALT, urea and creatinine. These parameters provide relevant information associated with many diseases, including those caused by viruses, bacteria and parasites or those related to alterations in vital organs.

It is known that reference values are specific for several variables, such as age, breed, physical condition, geographical location, reproductive stage, as well as the employed laboratory technique. On the other hand, specific data on the animals used for vaquejada is

unknown. Thus, the present work aimed at the evaluation of hematologic and biochemical alterations of horses used for the practice of vaquejada, in the Metropolitan Region of Fortaleza, Ceará, Brazil.

MATERIAL AND METHODS

Sixty-eight 3 to 15-year-old male horses, from private properties localized in the metropolitan region of the city of Fortaleza, state of Ceará, Northeastern Brazil, were assessed. Fortaleza lies in a coastal plain, right below the equator, at 3°43'02" south latitude and 38°32'35" west longitude, at 16 m altitude. The average temperature varies between 26 to 28°C, air relative humidity around 82% and the average rainfall is 1,338 mm/year².

The horses were individually evaluated, considering the overall clinical condition, such as body score, coat quality, rectal temperature, heart rate, respiratory rate and presence of clinical alterations; and the management conditions, as hygiene of facilities where they are kept, diet and mineral salt supply. Individual records were kept, where all the obtained information was written. It is important to emphasize that no clinical alterations were observed in any of the assessed animals.

Blood samples were aseptically obtained through jugular venipuncture, with a vacuum system, within tubes with and without ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and they were maintained in a temperature of approximately 25°C. All samples were collected during the morning, with animals at rest.

Blood samples containing EDTA were immediately sent to the laboratory in order to be processed in automatic hematological analyzer (Horiba ABX), according to hematological parameters, including red blood cell (RBC) count, white blood cell (WBC) and differential WBC counts, platelet count, packed cell volume (PCV), hemoglobin and the calculation of mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC).

A blood smear on a glass slide was prepared, stained with a commercial quick staining kit, in order to perform differential WBC count, evaluate morphological characteristics and research for hematozoan.

Blood samples without EDTA were centrifuged for 10 minutes, at 4,000 rpm, for serum obtention. Sera samples were identified and stored at -20°C, until processing. From these samples, total plasmatic protein levels and fractions, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatinine (CREA) and urea (U) were determined through colorimetric methods, using specific commercial kits (Wiener Lab) in automatic biochemical analyzer (Konelab 60i), according to manufacturer's recommendations.

This was a quantitative, descriptive and exploratory study with the results expressed as variation range, minimum and maximum values, followed by the calculation of mean values and standard deviation. Data of some variables were expressed in percentage.

This project was developed after approval by the Ethic Committee for the Use of Animals of Ceará State University (protocol number 09232603-0/70), following all recommended ethical principles related to the utilization of animals in experiments.

RESULTS AND DISCUSSION

The age of the 68 horses ranged from 3 to 15 years, with the average of 7 years. Some authors maintained horses older than 24 months within one group for the evaluation of hematologic parameters^{3,4}. This fact was attributed to a stabilization of RBC and neutrophil counts and values of hemoglobin, MCV and MCHC at around two years of age. In spite of the decrease followed by stabilization of these parameters that occur with the aging process, WBC, lymphocyte and eosinophil counts and erythrocyte sedimentation rate tend to increase⁵.

It was chosen to work with horses at rest, once there are reports on the influence of the stress of physical exercise over hematologic and biochemical parameters⁶. It was verified in horses that were subjected to exercises an increase in the number of floating erythrocytes, associated with the increase in PCV, with no alteration in MCV and in total proteins, which was attributed to splenic contraction and redistribution of body fluids, leading to hemoconcentration⁶.

The results of the performed complete blood counts (CBC) are found in Table 1. All obtained mean values were within the normal range.

RBC counts varied from 3,650,000 to 9,640,000 cells/ mm³. Hemoglobin values ranged from 6.1 from 15.6 g/dL. Out of the assessed animals, 23 presented lower RBC counts, when compared to the reference range, and 20 of them also presented lower hemoglobin concentration. Besides these 20 horses, five others presented low hemoglobin concentration (<11 g/dL), representing 36% of the population. PCV varied from 18 to 44%, and 28 individuals presented values lower than the referenced ones. Only one out of these 28 horses did not present alterations in RBC counts and/or in hemoglobin concentration. On the other hand, 20 animals presented, simultaneously, low RBC counts, hemoglobin concentration and PCV. Further alterations were not observed for MCV and MCHC. The occurrence of anemia may be related to nutritional factors or parasitosis. In the properties where these animals were kept, ectoparasites were not observed.

Equines that were infested with *Amblyomma cajannense*, before beginning parasitic control, presented mean values for RBC counts, PCV and hemoglobin below the reference range⁷. These findings characterize a normocytic, normochromic anemia. Tick infestation is closely associated with the transmission of babesiosis. Evidences of hemolytic anemia are present in most cases of this disease. However, in our study, only one of the 28 animals that presented alterations in RBC counts and in PCV also presented clinical signs that were

compatible with babesiosis, such as pale mucous membranes, jaundice, coat alterations, apathy and emaciation. This animal was positive for the presence of *Babesia* sp. on the blood smear. Some viral infections, such as Equine Infectious Anemia (EIA), may also be related to the occurrence of anemia⁸, however, all the assessed animals during this work were serologically negative for this disease.

Table 1. Hematologic parameters of horses from the metropolitan region of Fortaleza, Ceará, Brazil used for the practice of vaquejada.

Parameters	Reference values ¹⁴	Range	Mean ± S.D.
<i>Red Blood Cells</i>			
Erythrocytes (x10 ⁶ /mm ³)	6.5 – 12.5	3.65 – 9.64	7.10 ± 1.20
Hemoglobin (g/dL)	11 – 19	6.1 – 15.6	11.75 ± 1.84
Packed Cell Volume (%)	32 – 52	18 – 44	33 ± 5.33
MCV (fL)	34 – 58	41.3 – 54.1	46.35 ± 2.57
MCHC (%)	31 – 37	33.1 – 36.9	35.65 ± 0.8
<i>White Blood Cells</i>			
Leukocytes (x10 ³ /mm ³)	5.5 – 12.5	3.7 – 11.7	6.25 ± 1.70
Myelocytes (/mm ³)		0 – 0	0
Metamyelocytes (/mm ³)		0 – 0	0
Band (%)	0 – 2	1 – 1	1
Band (/mm ³)	0 – 100	54 – 103	78.5 ± 34.65
Segmented (%)	30 – 65	29 – 82	57.5 ± 12.36
Segmented (x10 ³ /mm ³)	2.7 – 6.7	1.11 – 9.28	3.46 ± 1.61
Lymphocytes (%)	25 – 70	15 – 66	37 ± 12.27
Lymphocytes (x10 ³ /mm ³)	1.5 – 5.5	0.88 – 5.28	2.32 ± 0.82
Eosinophils (%)	0 – 11	1 – 14	4 ± 3.08
Eosinophils (/mm ³)	0 – 925	48 – 1.050	292 ± 202.43
Basophils (%)	0 – 3	1 – 1	1 ± 0
Basophils (/mm ³)	0 – 170	61 – 67	64 ± 4.24
Monocytes (%)	1 – 7	1 – 5	1.5 ± 0.96
Monocytes (x10 ³ /mm ³)	0 – 0.8	0.036 – 0.336	0.101 ± 0.073
<i>Platelets</i>			
Platelets (x10 ³ /mm ³)	100 – 350	116 – 423	270 ± 57.1

Considering the leucocytes, WBC counts ranged from 3,700 to 11,700 cells/mm³, with a mean value of $6,250 \pm 1,700$ cells/mm³. From all evaluated horses, 16 presented WBC counts lower than the reference values and none of them presented leukocytosis. Out of these animals, eight presented neutropenia and four presented lymphopenia. Even with no apparent clinical alterations, 15 individuals presented neutropenia. The occurrence of leucopenia may be related to viral infections and, among the most common causes of neutropenia, it can be highlighted the occurrence of enteritis, pleuritis, salmonellosis, equine influenza virus (EIV) and equine herpes virus-1 (EHV-1) infections⁹.

During chronic inflammatory processes, equines usually develop neutrophilia with mature cells and lymphopenia, associated or not with leukocytosis⁹. Lymphopenia also occurs in cases of endotoxemia and in EIV and EHV-1 infections^{9,10}.

EIV infections produce respiratory clinical signs, which vary in severity and in duration, and an inflammatory process of mucous membranes, with nasal discharge and severe cough¹¹.

One of the most relevant characteristic of EHV is its ability to maintain a latent infection¹². EHV infections result in different clinical presentations, depending on the type of the virus. EHV-1 and EHV-4 are antigenically related and are associated with respiratory and neurological diseases and abortions¹³. In our study, none of the animals presented clinical alterations that were compatible with these viral diseases.

Only two animals presented high eosinophil counts, when compared to the reference values for the species. Eosinophilia may be related to parasitic infections, allergic respiratory diseases and dermatosis. The assessed horses did not exhibit clinical signs that were compatible to allergies. In general, lymphopenia and eosinopenia occur promptly as a response to stress or to the administration of corticoids¹⁰. In this study, monocytes were

within normality for the studied species. The count of floating monocytes may be elevated during chronic inflammatory diseases, especially those related to tissue necrosis⁹.

Total platelet counts ranged from 116,000 to 423,000 cells/ mm³. Four horses presented elevated counts, when compared to the reference values¹⁴. However, some authors consider counts ranging from 100,000 to 600,000 cell/ mm³ normal for the species⁹.

The results for serum biochemistry are described in Table 2. Renal function was assessed through dosing of urea and creatinine, and hepatic function was evaluated through dosing AST and ALT. Total plasmatic protein concentration was also determined, as well as the protein fractions. Mean values of the biochemical analyses were within the reference range for analyzed parameters, except for the concentration of albumin and globulin.

Table 2. Biochemical parameters of horses from the metropolitan region of Fortaleza, Ceará, Brazil used for the practice of vaquejada.

Parameters	Reference values¹⁷	Range	Mean ± S.D.
Globulin (g/dL)	3.2 – 5.3	1.8 – 4.3	2.85 ± 0.43
Albumin (g/dL)	2.5 – 3.8	3.1 – 4.5	3.9 ± 0.25
A/G	0.62 – 1.46	0.72 – 2.28	1.39 ± 0.26
Total Protein (g/dL)	5.7 – 7	5.8 – 7.4	6.75 ± 0.36
ALT (U/L)	3 – 23	3 - 72	9 ± 11.44
AST (U/L)	226 – 366	15 - 573	261 ± 111.87
Creatinine (mg/dL)	1.2 – 1.9	1.1 – 2.5	1.8 ± 0.3
Urea (mg/dL)	21.4 – 51.36	23 - 60	43 ± 4.33

Total protein concentration varied from 5.8 to 7.4 d/dL, and ten horses presented elevated values, when compared to the reference range. The mean value (6.75 ± 0.36) that was found was within the used reference range and it corroborated with the values observed

for athletic horses at rest¹⁶. On the other hand, such mean value was lower than those found by some authors^{3,15}.

Out of the 68 assessed horses, 37 (54.4%) individuals presented hyperalbuminemia. Albumin (A) concentration was above the reference range, varying from 3.1 to 4.5 g/dL. Fifty-four (79.4%) presented hypoglobulinemia. Globulin (G) concentration was below the reference range, varying from 1.8 to 4.3 g/dL. Antibodies represent the most important globulins and low antibody levels are associated with immunodeficiency⁸. The assessed horses did not exhibit signs of immunocompromising diseases. Out of the 68 sampled horses, 23 (33.8%) presented the A:G ratio above the used reference range¹⁷. The variation of serum protein levels may occur due to physiological factors, such as age, sex, hormones, pregnancy, lactation, nutrition, stress and hydro-electrolytic alterations⁷.

The mean concentration for ALT and AST was 9 ± 11.44 U/L and 261 ± 111.87 U/L, with values ranging from 3 to 72 U/L and 15 to 573 U/L, respectively. Out of the 68 sampled horses, five (7.4%) presented elevated ALT concentration, while 11 (16.2%) and 15 (22%) presented elevated and low AST concentration, respectively. Considering both parameters, only two (2.9%) horses presented high concentration of ALT and AST, simultaneously.

The mean value found for AST concentration is lower than the one observed for athletic horses that fed on hyperlipemic diet, at rest for four consecutive days¹⁸. In the present study, the animals were at rest at the moment of sample collection, but they had not gone through a long period of rest. Such fact explains the elevated AST levels as a consequence of the exercises practiced by the animals, on previous days. However, other authors did not find significant alterations in ALT and AST levels, during the performance of physical activities¹⁹.

Urea concentration ranged from 23 to 60 mg/dL and it was elevated in only one (1.5%) animal. Creatinine levels varied from 1.1 to 2.5 mg/dL, with the mean value of 1.8 ± 0.3 mg/dL. Out of the 68 studied horses, 25 (36.8%) presented elevated creatinine

concentration, above the reference range and only one (1.5%) presented a lower value. None of the animals presented elevated creatinine and urea levels, simultaneously. Urea and creatinine levels may vary according to geographic localization and horse breed²⁰. The reference ranges for urea and creatinine concentrations are 21.4 to 51.6 mg/dL and from 1.2 to 1.9 mg/dL, respectively¹⁷. On the other hand, in another study performed with 167 Mangalarga Paulista horses, urea and creatinine levels varied from 24.81 to 41.23 mg/dL and from 1.12 to 1.86 mg/dL, respectively²¹. For Quarter horses, urea and creatinine concentrations ranged from 31.02 to 52.56 mg/dL and from 1.46 to 1.88 mg/dL, respectively²².

Some studies performed with horses used for the practice of vaquejada demonstrated the occurrence of physical, biochemical and hematologic alterations, as a result of the stress related to the practice of physical exercise, to the lack of an adequate training routine and to harsh environmental conditions of the facilities⁶.

CONCLUSION

The horses used for the practice of vaquejada in the Metropolitan Region of Fortaleza, Ceará, Brazil, presented hematologic and biochemical alterations. These alterations may be associated to the adopted management. Other studies must be performed in this population in order to obtain more knowledge on the adequate maintenance of horses that practice vaquejada.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was partially supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERENCES

- ¹Grotto HZW. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. Rev Bras Hematol Hemoter. 2009, 31:178-182.
- ²Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará (IPECE). Perfil Básico Municipal. Fortaleza: Governo do Estado do Ceará, 2004. Available at: www.ipece.ce.gov.br/publicacoes/perfil_basico/PBM.../Fortaleza.pdf. Accessed: January 20, 2010.
- ³Veiga APM, Lopes STA, Franciscato C, Oliveira LSS, Merini LP. Valores hematológicos, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio do cavalo crioulo – suas variações em relação ao sexo, idade e manejo. Acta Scientiae Veterinariae. 2006, 34:275-279.
- ⁴Ribeiro CR, Fagliari JJ, Galera PD, Oliveira AR. Hematological profile of healthy Pantaneiro horses. Arq Bras Med Vet Zootec. 2008, 60:492-495.
- ⁵Moruzzi MM, Orozco CAG, Martins CB et al., Estudo de parâmetros hematológicos de potros da raça puro sangue árabe. Ars Veterinaria. 2007, 23:129-133.
- ⁶Lopes KRF, Batista JS, Dias RVC, Soto-Blanco B. Influência das competições de vaquejada sobre os parâmetros indicadores de estresse em equinos. Cienc Animal Bras. 2009, 10:538-543.
- ⁷Cunha AP, Bello ACCP, Leite RC et al., Avaliação de parâmetros clínicos e hematológicos de equinos submetidos a um programa de controle estratégico de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). Arq Bra Med Vet Zootec. 2008; 60:113-120.
- ⁸TIZARD, I. R. Imunologia Veterinária. 8ª ed. São Paulo: **Saunders Elsevier**, 2009, 34:462-466.
- ⁹Carlson GP, Morris DD. Collection of samples and interpretation of laboratory tests. In: Smith BP, ed. Large Animal Internal Medicine. 3rd ed. USA: Mosby Inc; 2006, 389-433.

- ¹⁰Orozco CAG, Martins CB, D'Angelis FHF et al., Efeito do exercício sobre variáveis hematológicas de equinos antes e após participação em prova de enduro de 40 Km. *Ars Veterinaria*. 2006, 22:179-183.
- ¹¹Oliveira GS, Schiavo PA, Mazur C, Andrade CM. Prevalência de anticorpos para o vírus da influenza equina, subtipo H3N8, em equídeos apreendidos no estado do Rio de Janeiro. *Cienc Rural*. 2005, 35:1213- 1215.
- ¹²Paradis MR. Equine respiratory viruses. In: Smith BP, ed. *Large Animal Internal Medicine*. 3rd ed. USA: Mosby Inc; 2006, 510-511.
- ¹³Diel DG, Almeida SR, Weiblen R et al., Prevalência de anticorpos contra os vírus da influenza, da arterite viral e herpesvírus em equinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Cienc Rural*. 2006, 36:1467-1673.
- ¹⁴Jain NC. Comparative hematology of common domestic animals. In: Jain NC, ed. *Essentials of veterinary hematology*. 1st ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.
- ¹⁵Martins CB, Orozco CAG, D'Angelis FHF et al., Determinação de variáveis bioquímicas em equinos antes e após a participação em prova de enduro. *Rev Bras Cienc Vet*. 2005, 12:62-65.
- ¹⁶Botteon PTL, Botteon RCCM, Reis TP, Massard CL. Babesiose em cavalos atletas portadores. *Cienc Rural*. 2005, 35:1136-1140
- ¹⁷Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.
- ¹⁸Godoi FN, Almeida FQ, Guarienti GA et al., Perfil hematológico e características das fezes de equinos consumindo dietas hiperlipidêmicas. *Cienc Rural*. 2009, 39:110-120.
- ¹⁹Puoli-Filho JNP, Barros-Neto, TL, Rodrigues PHM, Garcia HPL. Parâmetros fisiológicos do desempenho de cavalos de alta performance hidratados voluntariamente com água ou solução isotônica contendo carboidrato. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2007, 44:122-131.

²⁰Portela ACM, Sousa AF, Sousa JM et al., Levantamento preliminar dos níveis séricos de uréia e creatinina em equinos da raça Mangalarga Marchador criados no município de José de Freitas, Piauí – Brasil. Braz J Equine Med. 2009, 26:36-38.

²¹Neves M, Benesi FJ, Noronha T et al., Função renal em equinos da raça mangalarga paulista, criados no estado de São Paulo. Rev Bras Cienc Vet. 2005, 12:106-109.

²²Doretto JS, Silva MAML, Lagos MS. Determinação dos valores de referência para uréia e creatinina séricas em equinos. Bol Med Vet. 2007, 3:67-71.

8. CONCLUSÕES

1. Os equinos utilizados em vaquejada na Região Metropolitana de Fortaleza apresentaram evidências sorológicas de prévia exposição ao herpesvírus equídeo.
2. Os equinos utilizados em vaquejada na Região Metropolitana de Fortaleza apresentaram alterações em seu perfil hematológico, caracterizado por anemia e leucopenia.
3. Os equinos utilizados em vaquejada na Região Metropolitana de Fortaleza apresentaram alterações em seu perfil bioquímico sérico, apresentando hiperalbunemia com hipoglobulinemia e alterações específicas em ALT e AST.

9. PERSPECTIVAS

Este trabalho fornece subsídios para estudos mais aprofundados, e melhor controlados através do acompanhamento no decorrer da competição, a fim de esclarecer o nível de estresse o cavalo de vaquejada é submetido, as implicações nos seus parâmetros fisiológicos e do bem estar animal com repercussões na sanidade animal.

A partir desse estudo surgem também perspectivas para a adoção de medidas de controle sanitário, melhorias no manejo e programas vacinais. Contudo, estudos devem ser realizados para conhecimento e orientação sobre a manutenção da saúde em animais praticantes do esporte vaquejada.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; LARA, M.C.C.S.H.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; OKUDA, L.H.; 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.
- ALMEIDA, M.A.Z.; SILVA, N.M. Determinação dos Valores Hematológicos Normais do Cavalo (*Equus caballus*, Linnaeus) da Raça Crioula. *A Hora Veterinária*, v.15, n.87, p.48-50, 1995.
- ARDANS, A.A. Herpesviridae. In: HIRSH, D.C. & ZEE, Y.C. (Eds) *Microbiologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.327-330, 2003.
- ATASEVEN, V.S.; BILGE-DALP, S.; BASARAN, Z.; KESKIN, S. Seroepidemiological studies of equine herpesviruses 1 (ehv-1) and 4 (ehv-4) infections in working horses from the eastern Turkey, Ankara. *Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* v.57, p.39-42, 2010.
- ATASEVEN, V.S.; DAGALP, S.B.; GUZEL, M.; BASARAN, Z.; TAN, M.T.; GERAGHTY, B. Prevalence of equine herpesvirus-1 and equine herpesvirus-4 infections in equidae species in Turkey as determined by ELISA and multiplex nested PCR. *Research in Veterinary Science*. v.86, p.339-344, 2009.
- BARTON, M.H.; WILLIAMSON, L.; JACKS, S. Body weight, hematologic findings, and serum and plasma biochemical findings of horses competing in a 48-, 83-, or 159-km endurance ride under similar terrain and weather conditions. *Am. J. Vet. Res.*, v.64, n.6, p.746-753, 2003.
- BLOOD & RADOSTITIS. Clínica Veterinária. 7ª ed.; Rio de Janeiro – RJ. Editora Guanabara Koogan S.A. 1991.
- BLUNDEN, A.S.; SMITH, K.C.; WHITWELL, K.E.; DUNN, K.A. Systemic infection by equid herpesvirus-1 in a Grevy's zebra stallion (*Equus grevyi*) with particular reference to genital pathology. *J Comp Pathol*. v.119, p.485-493. 1998.
- BOTTEON, P.T.L.; BOTTEON, R.C.C.M.; REIS, T.P.; MASSARD, C.L. Babesiose em cavalos atletas portadores. *Ciência Rural*, v.35, p.1136-1140, 2005.

- BUSH, B. M; Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais. 1 ed. São Paulo: *Roca*, 2004.
- CARLSON, G.P.; MORRIS, D.D. Collection of samples and interpretation of laboratory tests. In: SMITH, B.P. ed. Large Animal Internal Medicine. 3rd ed. USA: *Mosby Inc.*, p.389-433, 2006.
- CARLSON, G. P.; MORRIS, D. D. Colheita de amostras e interpretações de testes laboratoriais. In: SMITH, B. P. Medicina interna de grandes animais, 3. ed. São Paulo: Manole. p.389-433, 2006.
- CARVALHO, F.S.R.; COELHO, H. E.; BEDAQUE, M. Aborto equino por herpesvirus equi 1. *Revista do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia*. v.7, n. 1, p.45-47, 1991.
- CEBULJ-KADUNC, N.; BOZIC, M.; KOSEC, M. The influence of age and gender on hematological parameters in Lippizan horses. *J. Vet. Med. A Phys. Pathol. Clin. Med.*, v.49, n.4, p.217-221, 2002.
- CONCEIÇÃO, M.; LAPOSY, C.B.; MELCHERT, A.; et al. Hemograma e bioquímica sérica de equinos da raça Quarto de Milha antes e após o exercício. *Veterinária Notícias*, v.7, n.2, p.87-92, 2001.
- CUNHA, A.P.; BELLO, A.C.C.P.; LEITE, R.C. Avaliação de parâmetros clínicos e hematológicos de equinos submetidos a um programa de controle estratégico de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Arq Bra Med Vet Zootec*. v.60, p.113-120, 2008.
- DIAS, H.L.T. Soroepidemiologia de cinco enfermidades infecciosas em equinos criados no estado do Pará. 147f. Belém, PA. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) – Programa de Doutorado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, 2000.
- DIEL, D. G.; ALMEIDA, S. R.; WEIBLEN, R.; FRANDOLOSO, F.; 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. 1467-1673, Set-Out, 2006.
- DINHEIRO RURAL, São Paulo: Ed. Três, n.26, p.41. 2006.
- DORETTO, J.S.; SILVA, M.A.M.L.; LAGOS, M.S. Determinação dos valores de referência para uréia e creatinina séricas em equinos. *Bol Med Vet*. v.3, p.67-71, 2007.

- FAGLIARI, J.J.; SILVA, S.L. Hemograma e proteinograma plasmático de equinos hípidos e de equinos acometidos por abdomen agudo, antes e após laparotomia. *Arg. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.54, n.6, p.559-567, 2002.
- FAO. Agricultural Data – FAOSTAT, 2006. Capturado em 27 jul. 2008. Online. Disponível na Internet <http://faostat.fao.org/faostat/collections?subset=agriculture>.
- GILKERSON, J.R., LOVE, D.N., DRUMMER, H.E., STUDDERT, M.J.; WHALLEY, J.M. seroprevalence of equine herpesvirus 1 in thoroughbred foals before and after weaning. *Australian Veterinary Journal*. v.76, p.677-682, 1998.
- GILKERSON, J.R., WHALLEY, J.M., DRUMMER, H.E., STUDDERT, 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. *Veterinary Microbiology*. v.68 p.27-34, 1999.
- GODOI, F.N.; ALMEIDA, F.Q.; GUARIENTI, G.A. Perfil hematológico e características das fezes de equinos consumindo dietas hiperlipidêmicas. *Ciência Rural*. v.39, p.110-120, 2009.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais. 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Gramado. 2002.
- GROTTO, H.Z.W. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. *Rev Bras Hematol Hemoter.*, v.31, p.178-182, 2009.
- HAMLIN, M.J.; SHEARMAN, J.P.; HOPKINS, W.G. Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses. *Equine Vet. J.*, v.34, n.4, p.383-388, 2002.
- HARLESS, W.; PUSTERLA, N. Equine herpesvirus 1 and 4 respiratory disease in the horse. *Clinical Techniques in Equine Practice*. n.5, v.3, p.197-202, 2006.
- HARVEY, J.W.; ASQUITH, R.L.; McNULTY, P.K. Haematology of foals up to one year old. *Equine Vet J.* v.16, n.4, p.347-353, 1984.
- HEINEMANN, M.B.; CORTEZ, A.; SOUZA, M.C.C.; GOTTI, T.; FERREIRA, F.; HOMEM, V.S.F.; FERREIRA NETO, J.S.; SOARES, R.M.; SAKAMOTO, S.M.; CUNHA, E.M.S.; RICHTZENHAIN, L.J. 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.

- HENNINGER, R.W.; REED, S.M.; SAVILLE, W.J.; ALLEN, G.P.; HASS, G.F.; KOHN, C.W.; SOFALY, C. Outbreak of neurologic disease caused by equine herpesvirus-1 at a university equestrian center. *Journal of Veterinary Internal Medicine*.v.21, p.157–165, 2007.
- HIRSH, D. C. Microbiologia Veterinária. Rio de Janeiro: *Guanabara Koogan*, 2003.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). *Pesquisa Pecuária Municipal*, 2008. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acessado em 06/2010.
- Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará (IPECE). Perfil Básico Municipal. Fortaleza: Governo do Estado do Ceará, 2004. Disponível em: www.ipece.ce.gov.br/publicacoes/perfil_basico/PBM.../Fortaleza.pdf. Acessado em 05/2010.
- JAIN, N.C. Comparative hematology of common domestic animals. In: Jain NC, ed. Essentials of veterinary hematology. 1st ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed. New York: *Academic Press*, 1997.
- KEANE, D.P.; LITTLE, P.B.; WILKIE, B.N.; ARTSOB, H.; THORSEN, J. Agents of equine viral encephalomyelitis: correlation of serum and cerebrospinal fluid antibodies. *Canadian Journal of Veterinary Research*. v.52, n.2, p.229-235, 1988.
- KRUMRYCH, W.; WISNIEWSKI, E.; DANEK, J. Haematological parameters of the Polish Primitive Horses. *Arch. Vet. Pol.* v.33, n.3-4, p.205-216, 1993.
- KYDD, J.H.; TOWNSEND, H.G.; HANNANT, D. The equine immune response to equine herpesvirus-1: the virus and its vaccines. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v.111, p.15-30, 2006.
- LARA, M.C.C.S.H.; CUNHA, E.M.S.; NASSAR, A.F.C.; GREGORY, L.; BIRGEL, E.H.; FERNANDES, W.R. Ocorrência do herpesvírus equídeo 1 (HVE-1) em cavalos criados no estado de São Paulo, Brasil. *Ars Veterinária*. v.19, n.3, p.254-259, 2003.
- LARA, M.C.C.S.H.; FURMAN, K.E.; BARROS FILHO, I.R.; VILLA LOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; DECONTO, I.; BONACIM, J.; UTIME, R.A.; BIONDO, A.W. Detection of antibodies against equine viral arteritis virus (EVAV) and equine herpesvirus type 1 (EHV-1) in cart horses from Curitiba and surroundings, southern Brazil. *Archives of Veterinary Science*. v.11, n.3, p.11-14, 2006.

- LOPES, K.R.F.; BATISTA, J.S.; DIAS, R.V.C.; SOTO-BLANCO, B. Influência das competições de vaquejada sobre os parâmetros indicadores de estresse em equinos. *Ciência Animal Brasileira*. v.10, n.2, p.538-543, 2009.
- MARTINS, C.B.; OROZCO, C.A.G.; D'ANGELIS, F.H.F. Determinação de variáveis bioquímicas em equinos antes e após a participação em prova de enduro. *Rev Bras Cienc Vet*. v.12, p.62-65, 2005.
- MAXIE, M.G.; YOUSSEF, S. Nervous system. In: MAXIE, M.G. (Org.) Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals. 5.ed. Philadelphia: *Elsevier Saunders*, p.281-457, 2007.
- McFARLANE, D.; SELTON, D.; GAFFNEY, D.; et al. Hematologic and serum biochemical variables and plasma corticotrophin concentration in healthy aged horses. *Am J Vet Res*, v.59, n.10, p.1247-1251, 1998.
- MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. Medicina de laboratório veterinária – interpretação e diagnóstico. São Paulo: *Roca*, p.308, 1995.
- MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Veterinary laboratory medicine: interpretation and diagnosis. 2 ed. Philadelphia: W.B. *Saunders Company*, p.373, 1998.
- MONDOLO, 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 equinos pelo teste de fixação do complemento, considerações sobre seu uso na saúde do haras. *A Hora Veterinária*. v.8, p.25-27, 1989.
- MORI E.; CASTRO A.M.M.G.; LARA M.C.C.S.H.; CUNHA E.M.S. VILLALOBOS E.M.C.; ASANO K.M.; GUIRAO M.P.; BRANDAO P.E. & RICHTZENHAIN L.J. Occurrence of equid herpesvirus (EHV-1) and (EHV-4) infections in asymptomatic equid population in São Paulo State, Brazil. In: Anais XIX National Meeting of Virology. *Virus Reviews & Research: Journal of The Brazilian Society For Virology*. (Minas Gerais, Brasil). p.101, 2008.
- MORUZZI, M.M.; OROZCO, C.A.G.; MARTINS, C.B. Estudo de parâmetros hematológicos de potros da raça puro sangue árabe. *Ars Veterinária*. v.23, p.129-133, 2007.
- MURPHY, F.A. Veterinary virology. 3.ed. San Diego: *Academic*, p. 303-463, 1999.
- NESSE, L.L.; JOHANSEN, G.I.; BLOM, A.K. Effects of racing on lymphocyte proliferation in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v.64, n.4, p.528-530, 2002.
- NEVES, M.; BENESI, F.J.; NORONHA, T. Função renal em equinos da raça mangalarga paulista, criados no estado de São Paulo. *Rev Bras Cienc Vet*. v.12, p.106-109, 2005.

- NILSON, M.R.; CORRÊA, W.M. Isolamento do vírus do aborto equino no estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.33, p.23-35, 1966.
- OLIVEIRA, G.S.; SCHIAVO, P.A.; MAZUR, C.; ANDRADE, C.M. Prevalência de anticorpos para o vírus da influenza equina, subtipo H3N8, em equideos apreendidos no estado do Rio de Janeiro. *Cienc Rural*. v.35, n.5, p.1213- 1215, 2005.
- OROZCO, C.A.G.; MARTINS, C.B.; D'ANGELIS, F.H.F. Efeito do exercício sobre variáveis hematológicas de equinos antes e após participação em prova de enduro de 40 Km. *Ars Veterinaria*. v.22, p.179-183, 2006.
- PARADIS, M.R. Vírus respiratórios de equinos. *In*. Smith B.P. *Medicina Interna de Grandes Animais*. 3.ed. São Paulo:São Paulo. p.510-511, 2006.
- PATEL, J.R.; HELDENS, J. Equine herpesvírus 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4)--epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review. *Veterinary Journal*. v.1, n.170, p.14-23, 2005.
- PENA, L.J.; PENA, D.A.; BARRIOS, P.R.; DALE, R.; LAMÊGO, M.R.A.; MORAES, M.P. Levantamento soro-epidemiológico da infecção pelo vírus da Anemia Infecciosa Equina, da Influenza Equina-2 e do Herpesvírus Equino-1 em rebanhos do sul do Estado do Pará, Brasil. *Braz J. vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v.43, n.4, p.537-542, 2006.
- PLOTKA, E.D.; EAGLE, T.C.; GAULKE, S.J. Hematologic and biochemical characteristics of feral horses from three management areas. *J. Wildl. Dis.*, v.24, n. 2, p. 231-239, 1988.
- PORTELA, A.C.M.; SOUSA, A.F.; SOUSA, J.M. Levantamento preliminar dos níveis séricos de uréia e creatinina em equinos da raça Mangalarga Marchador criados no município de José de Freitas, Piauí – Brasil. *Braz J Equine Med*. v.26, p.36-38, 2009.
- PUOLI-FILHO, J.N.P.; BARROS-NETO, T.L.; RODRIGUES, P.H.M.; GARCIA, H.P.L. Parâmetros fisiológicos do desempenho de cavalos de alta performance hidratados voluntariamente com água ou solução isotônica contendo carboidrato. *Braz J Vet Res Anim Sci*. v.44, p.122-131, 2007.
- RALSTON, S.L.; NOCKELS, C.F.; SQUIRES, E.L. Differences in diagnostic test results and hematologic data between aged and young horses. *Am. J. Vet. Res*. v.49, n.8, p.1387-1392, 1988.

- REED, S.M.; TORIBIO R.E. Equine herpesvirus 1 and 4. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice.* v.20, p.631-642, 2004.
- REVINGTON, M. Haematology of the racing Thoroughbred in Australia 1: reference values and the effect of excitement. *Equine Vet. J.* v.15, n.2, p.141-144, 1983.
- RIBEIRO, C.R.; FAGLIARI, J.J.; GALERA, P.D.; OLIVEIRA, A.R. Hematological profile of healthy Pantaneiro horses. *Arq Bras Med Vet Zootec.* v.60, p.492-495, 2008.
- RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.N.; MÉNDEZ, M.C. Doenças de ruminantes e equinos. Pelotas: *Ed. Universitária*/UFPEL. p.651, 1998.
- ROBSON, P.J.; ALSTON, T.D.; MYBURGH, KH. Prolonged suppression of the innate immune system in the horse following an 80 km endurance race. *Equine Vet. J.*, v.35, n.2, p.133-137, 2003.
- RUBIO, M.D.; MUNOZ, A.; SANTISTEBAN, R. Comparative hematological study of two breeds of foals (Andalusian and Arab) subjected to exercise of progressive intensity. *J. Vet. Med. Sci.*, v.57, n.2, p.311-315, 1995.
- SABINE, M.; ROBERTSON, G.R.; WHALLEY, J.M. Differentiation of sub-types of equine herpesvirus 1 by restriction endonuclease analysis. *Australian Veterinary Journal.* v.57, p.148-149, 1981.
- SANTOS, J.C.A.; RIET-CORREA, F.; SIMOES, S.V.D.; BARROS, C.S.L. Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e equinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* v.28, n.1, p. 1-14, 2008.
- SCHEFFER, J.F.S.; GONZÁLEZ, F.H. D. Enzimologia Clínica em Medicina Veterinária. 2006. Disponível em <http://www6.ufrgs.br/bioquimica/index.htm>. Acesso em 06.2010.
- SORIANO, B.M.A.; OLIVEIRA, H.D.E.; CATTO, J.B.; COMASTRI, J.A. FILHO; GALDINO, S.; SALIS, S. M. EMBRAPA - Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal (Corumbá, MS). Plano de utilização da fazenda Nhumirim. Corumbá: In: Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal - EMBRAPA-CPAP Documento 21, p.72, 1997.
- STUDDERT, M.J.; SIMPSON, T.; ROIZMAN, B. Differentiation of respiratory and abortigenic isolates of equine herpesvirus 1 by restriction endonucleases. *Science.* v.214, n.4520, p.562-564, 1981.
- THRALL, M. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária 1 ed. *Roca.* São Paulo, p. 335-354, 2007.

- TIZARD, I. R. *Imunologia Veterinária*. 8ª ed. São Paulo: *Saunders Elsevier*; v.34, p.462-466, 2009.
- TYLER-McGOWAN, C.M.; GOLLAND, L.C.; EVANS, D.L.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. Haematological and biochemical responses to training and overtraining. *Equine Vet J Suppl*. v.30, p.621-625, 1999.
- VAN HEERDEN, J.; DAUTH, J.; DREYER, M.J. Selected laboratory parameters of thoroughbreds. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, v. 61, n. 4, p. 155-158, 1990.
- VARGAS, A. C.; WEIBLEN, R. Antibody prevalence against equine herpesvirus type 1 (EHV 1) in some counties of Rio Grande do Sul state. *A Hora Veterinária*, v.10, p.5-8, 1991.
- VEIGA, A.P.M.; LOPES, S.T.A.; FRANCISCATO, C.; OLIVEIRA, L.S.S.; MERINI, L.P. Valores hematológicos, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio do cavalo crioulo – suas variações em relação ao sexo, idade e manejo. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2006, 34:275-279.
- WEIBLEN R. Herpesvírus equino. In: Riet-Correa F. (Eds) *Doenças de ruminantes e equinos*. São Paulo: *Varela*, v. 1, p. 108-113, 2001.
- WEIBLEN, R.; RABUSKE, M.; REBELATTO, M.C.; NOBRE, V.M.; CANABARRO, T.F. Abortion due to equine herpesvírus in southern Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.27, n.6, p.1317-1320, 1994.
- YACTOR, J.; LUNN, K. F.; TRAUB-DARGATZ, J. L.; MORLEY, P. S.; BARNETT, C. D.; KOHLER, A. K.; KASPER, K. S.; KIVI, A. J.; LUNN, D. P. Detection of Nasal Shedding of EHV-1&4 at Equine Show Events and Sales by Multiplex Real-Time PCR. *AAEP PROCEEDINGS*, v.52, p.223-227, 2006.