

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOEXPERIMENTAÇÃO**

↑  
*8 espaços simples*  
↓

**ZEBRAFISH (*Danio Rerio*) COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA  
INFECÇÕES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL POR HERPESVÍRUS  
BOVINO TIPO 5 (BoHV-5)**

↑  
*8 espaços simples*  
↓

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

↑  
*8 espaços simples*  
↓

**Sérgio Aladim Messina**

Obs: capa com fonte 14, espaçamento simples, todos os itens em **negrito**.

Colocar o ano na última linha.

**Passo Fundo, RS, Brasil  
2014**

**ZEBRAFISH (*Danio Rerio*) COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA INFECÇÕES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL POR HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 5 (BoHV-5)**

↑  
*8 espaços simples*  
↓

**Sérgio Aladim Messina**

↑  
*8 espaços simples*  
↓

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Área de Concentração em Bioexperimentação, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (UPF), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Bioexperimentação**

↑  
*8 espaços simples*  
↓

**Orientador: Prof. Luiz Carlos Kreutz**

Obs: fonte 12, espaçamento simples.  
Observar itens em **negrito**.  
Colocar o ano na última linha.

**Passo Fundo, RS, Brasil**  
**2014**

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE MESTRADO EM BIOEXPERIMENTAÇÃO**

↑  
4 espaços simples

↓

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

↑  
4 espaços simples

↓

**ZEBRAFISH (*Danio Rerio*) COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA INFECÇÕES  
DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL POR HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 5 (BoHV-5)**

Elaborada por  
**Sérgio Aladim Messina**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Bioexperimentação**

**Comissão Examinadora**

**Luiz Carlos Kreutz, PhD, UPF  
(Orientador/Presidente)**

**Leonardo José Gil Barcellos, Dr. UPF**

**Fernando Rosado Spilki, Dr. FEEVALE**

Obs: fonte 12, espaçamento simples. Observar itens em **negrito** e 3 espaços simples entre itens.

Colocar o ano na última linha.

**Passo Fundo, RS, Brasil  
2014**

## **AGRADECIMENTOS**

A realização desse trabalho não seria possível sem o apoio e colaboração de inúmeras pessoas. Gostaria de agradecer todos aqueles que de uma forma ou outra contribuíram para que eu pudesse concluir esse importante trabalho.

Em primeiro lugar, e mais importante de tudo, gostaria de agradecer.....

A realização desse trabalho somente foi possível com o apoio financeiro da CAPES ...ou FAPERGS/UPF etc.. pela concessão de bolsa (taxa ou gratuidade)... Obs: o importante é agradecer a fonte financiadora de bolsas/taxas/gratuidade e a fonte financiadora da pesquisa nos casos indicados.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho a .....( alguém em especial....família...etc) que sempre acreditou no meu trabalho e na minha capacidade de.....  
Certamente, seu exemplo....etc e tal....

↑  
*30 espaços simples*  
↓

## **EPÍGRAFE**

A ciência sem a religião é manca, a religião sem a ciência é cega!

*Albert Einstein*

Obs: Alinhar **EPÍGRAFE** no centro.

Alinhar a citação e o autor à direita.

## ÍNDICE

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	ix
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	x
<b>RESUMO</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xii
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	14
2.1 CLASSIFICAÇÃO DO HERPESVIRUS BOVINO.....	
2.2 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	
2.2.1 Infecções respiratórias.....	
2.2.1 Infecções neurológicas.....	
<b>2.3. MODELOS ANIMAIS PARA INFECÇÕES HERPÉTICAS</b> .....	
<b>3. CAPÍTULO 1. Bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) replication in zebrafish (<i>Danio rerio</i>) neural cells</b> .....	
Abstract.....	
Introduction.....	
Material and methods.....	
Results.....	
Discussion.....	
References.....	
<b>4. CAPÍTULO 2. A zebrafish (<i>Danio rerio</i>) experimental model for bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) infection</b> .....	
1. Abstract.....	
2. Introduction.....	
3. Material and methods.....	
4. Results and discussion.....	
5. References.....	
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	

Obs: a numeração é progressiva. Observe que os algarismos arábicos são precedidos pelos algarismos romanos.

A organização dos subtítulos de cada capítulo deve obedecer a formatação do artigo. Veja a diferença entre os subtítulos dos capítulos 1 e 2.

## LISTA DE FIGURAS

### 3. CAPÍTULO 1

- FIGURE 1. Kinetics of bovine herpesvirus type 5 replication in zebrafish neuronal cells cultured *in vitro*. Cells were infected at a m.o.i of 1. At each time point, aliquots of culture media were collected for vírus titration. Data represent the mean  $\pm$ SEM of at least 3 aliquots of duplicate experiments. Differences are indicated by letter ( $p < 0.05$ )..... 34
- FIGURE 2. Expression of gD glycoprotein of BoHV-5 in neuronal cells of zebrafish treated with etcl e tal..... 35

### 4. CAPÍTULO 2

- FIGURE 1. FIGURA 1. zebrafish infected by BoHV-5. Fish were infected by submersion for 30 minutes in water containing BoHV-1 (100 TCID<sub>50</sub>/ml). Data represent the mean  $\pm$ SEM of at least 10 fish of. Differences are indicated by letter ( $p < 0.05$ )..... 48
- FIGURE 2. Profile of BoHV-5 mRNA expression in neuronal cells of zebrafish infected with BoHV-5 etc e tal ..... 49

<p>Obs: a lista de figuras e tabelas poderá ser feita usando a opção tabela do word (3 colunas) para facilitar a formatação. Ao final remova todas as margens da tabela.</p>
--



## LISTA DE TABELAS

Para tabelas, siga o mesmo modelo para figuras. Para cada capítulo, se houver tabelas, indique o título e a página em que se encontra a tabela. Se não houver tabelas no seu trabalho esse página não será necessária.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABCCC	Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos
BNDE	Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico
CAPA	Clube dos Amigos Protetores de Animais
Kb	Kilobases
Kg	Kilograma
mg	Miligramas
UPF	Universidade de Passo Fundo
ul	Microlitro

**RESUMO**

**Dissertação de Mestrado**  
**Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação**  
**Universidade de Passo Fundo**

**ZEBRAFISH (*Danio Rerio*) COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA INFECÇÕES  
POR HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 5 (BoHV-5)**

Autor: Sergio Aladim Messina

Orientador: Luiz Carlos Kreutz

Passo Fundo, 30 de Agosto de 2014

O presente trabalho descreve a utilização do zebrafish (*Danio Rerio*) como modelo experimental para o estudo de meningoencefalite causada por herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-1). Uma cepa patogênica do BoHV-5 (SV56/90) .....

**Palavras-chave:** infecção experimental, Patogenia, etc....., .....

Mantenha o resumo com no máximo 500 palavras.
---

**ABSTRACT**

**Master's Dissertation**  
**Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação**  
**Universidade de Passo Fundo**

**A ZEBRAFISH (*Danio Rerio*) EXPERIMENTAL MODEL FOR BOVINE HERPESVÍRUS  
TYPE 5 (BoHV-5) INFECTION**

Author: Sergio Aladim Messina

Advisor: Luiz Carlos Kreutz

Passo Fundo, 30 de Agosto de 2014

In this study we use zebrafish (*Danio Rerio*) as an experimental model for bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) induced meningoencephalitis. A cytopathogenic strain of BoHV-5 (SV56/90).....

**Key words:** experimental infection, pathogenesis, etc ....., .....

Keep the abstract up to 500 words
-----------------------------------

## 1. INTRODUÇÃO

As infecções por herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) são comuns no sul do Brasil (1), Uruguai e Argentina (2) e se constituem na principal infecção viral do sistema nervoso central de bovinos. Nesse contexto.....

Nos últimos anos, o zebrafish (*Danio rerio*) tem sido utilizado como modelo experimental para infecções bacterianas e virais, inclusive aquelas causadas por herpesvírus (3). Etc e tal.....

O BoHV é um vírus pleiomórfico, envelopado, que contém genoma DNA de fita dupla de aproximadamente 138 kilobase (kb). O BoHV-5 pertence à família *Herpesviridae*, subfamília *Herpesvirinae*, gênero *Varicellovirus*.....

Considerando-se que.....

Nesse contexto... ..... os objetivos desse trabalho foram desenvolver um modelo experimental em zebrafish para as infecções neurológicas do BoHV-5 e .....etc e tal.....

A presente dissertação é compreendida, além desta introdução, uma breve revisão da literatura sobre..... e dois capítulos na forma de artigos científicos. O Capítulo 1 “**Bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) replication in zebrafish (*Danio rerio*) neural cells**” relata a adaptação do BoHV-5 em células neurológicas de zebrafish, e foi publicado no periódico ..... O capítulo 2 “título do artigo se houver...” e local onde foi submetido ou publicado.

<p>Obs: na introdução, além de informações técnicas sobre o assunto pesquisado, o mestrando poderá incluir os objetivos do trabalho e informar sobre a organização da dissertação e mesmo da motivação para pesquisar sobre o assunto.</p>
--

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

As infecções por herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) estão entre as principais afecções do sistema nervoso central (SNC) de bovinos. Além do SNC, as manifestações clínicas da infecção se manifestam também no trato respiratório superior (4) e caracterizam-se por....

### 3. CAPÍTULO 1

#### **Bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) replication in zebrafish (*Danio rerio*) neural cells**

Sergio Aladim Messina<sup>1</sup>, Cristian Olivo Nied<sup>1</sup>, Rafael Frandoloso<sup>1</sup>, Fernando Rosado Spilki<sup>2</sup>,  
Leonardo José Gil Barcellos<sup>1</sup>, Luiz Carlos Kreutz<sup>1\*</sup>

(Artigo publicado no *Journal of General Virology*, 89:3, 354-359, 2013)

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brazil.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, FEEVALE, São Leopoldo, RS, Brazil

\* Corresponding author: L.C.Kreutz, Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo. Campus I, Bairro São José. 99052-900 – Passo Fundo, RS, Brazil. Telephone +55 54 3316 8485. E-mail: [lckreutz@upf.br](mailto:lckreutz@upf.br).

**Abstract**

Coloque o abstract (ou resumo) nessa página, de acordo com as normas do periódico. Após, coloque o restante do artigo tal qual submetido para publicação, incluindo referências bibliográficas, tabelas, legenda das figuras e figuras.



#### 4. CAPÍTULO 2

### **A zebrafish (*Danio rerio*) experimental model for bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) infection**

Sergio Aladim Messina<sup>1</sup>, Rafael Frandoloso<sup>1</sup>, Leonardo José Gil Barcellos<sup>1</sup>, Eduardo Furtado Flores<sup>2</sup>, Deniz Anziliero<sup>2</sup>, Luiz Carlos Kreutz<sup>1\*</sup>

(Artigo submetido ao periódico *Veterinary Immunology and Immunopathology* - 2014)

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brazil.

<sup>2</sup> Setor de Virologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia e Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil

\* Corresponding author: L.C.Kreutz, Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo. Campus I, Bairro São José. 99052-900 – Passo Fundo, RS, Brazil. Telephone +55 54 3316 8485. E-mail: [lckreutz@upf.br](mailto:lckreutz@upf.br).

## 1. Abstract

Coloque o abstract (ou resumo) nessa página de acordo com a norma do periódico. Após, coloque o restante do artigo tal qual submetido para publicação, incluindo referências bibliográficas, tabelas, legenda das figuras e figuras.

## 5. CONCLUSÕES

A utilização de zebrafish (*Danio rerio*) como modelo experimental para infecções herpéticas do sistema nervoso central representa um avanço no estudo da patogenia de infecções virais em geral. Com esse estudo e com os resultados obtidos podemos concluir que:

- a) Zebrafish.....
- b) A infecção de células neurológicas de zebrafish.....
- c) Etc e tal.....
- d) .....

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas últimas décadas observou-se um grande movimento social no sentido de reduzir a utilização de animais na experimentação científica. No entanto, é consenso entre pesquisadores que modelos experimentais são fundamentais para promover o avanço na produção de fármacos, imunobiológicos em geral, principalmente vacinas, e também para o estudo da patogenia de diversas enfermidades. Nesse contexto, a utilização do zebrafish (*Danio rerio*) como modelo experimental para infecções do sistema nervoso central por herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) representa .....etc e tal.....

Nos experimentos descritos nessa dissertação..... etc e tal.....

.....

Obs: o mestrando poderá dedicar um parágrafo para relatar as perspectivas de continuidade da pesquisa e quais rumos esse trabalhos devem tomar visando a consolidação do conhecimento no tópico pesquisado.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Campos FS, Franco a C, Hübner SO, Oliveira MT, Silva a D, Esteves P a, et al. High prevalence of co-infections with bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle in southern Brazil. *Vet Microbiol.* 2009 Oct 20;139(1-2):67–73.
2. Sá M, Brum MCS, Weiblen R. Identificação e diferenciação de herpesvírus bovino tipos 1 e 5 isolados de amostras clínicas no Centro -Sul do Brasil , Argentina e Uruguai ( 1987-2006 ) 1. *Pesq Vet Bras.* 2007;27(10):403–8.
3. Sullivan C, Kim CH. Zebrafish as a model for infectious disease and immune function. *Fish Shellfish Immunol.* 2008 Oct;25(4):341–50.
4. Rissi DR, Oliveira FN, Rech RR, Pierezan F, Lemos RAA. Epidemiologia , sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino. *Pesq Vet Bras.* 2006;26(2):123–32.

Os dados de pesquisa citados nesse modelo de dissertação são fictícios e foram feitos única e exclusivamente com o propósito de ilustração.

Sérgio Aladim Messina (*in memoriam*) certamente gostaria de ser aluno do nosso programa. Seria uma honra orientá-lo!