

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

SAMANTHA GUSMÃO PELLIZZONI

**SOROPREVALÊNCIA DAS INFECÇÕES POR Herpesvírus equino (EHV-1/
EHV-4), *Sarcocystis neurona* e *Brucella* spp. EM CAVALOS DA
MICRORREGIÃO DE ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL**

ILHÉUS – BAHIA

2020

SAMANTHA GUSMÃO PELLIZZONI

**SOROPREVALÊNCIA DAS INFECÇÕES POR Herpesvírus equino (EHV-1/
EHV-4), *Sarcocystis neurona* e *Brucella* spp. EM CAVALOS DA
MICRORREGIÃO DE ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL**

Tese apresentada à Universidade Estadual de
Santa Cruz, como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor em Ciência Animal

Área de concentração: Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. George Rêgo Albuquerque

ILHÉUS – BAHIA

2020

P391

Pellizzoni, Samantha Gusmão.

Soroprevalência das infecções por herpesvírus equino (Ehv-1/ Ehv-4), Sarcocystis Neurona e Brucella Spp. em cavalos da microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia-Brasil / Samantha Gusmão Pellizzoni. – Ilhéus, BA: UESC, 2020.

xv,129 f. : il. ; anexos

Orientador: George Rêgo Albuquerque.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Inclui referências e apêndice.

1. Cavalos – Doenças. 2. Brucelose. 3. Mieloencefalopatia animal. 4. Rinopneumonite animal. 5. Sarcocystidae. I. Título.

CDD 636.10896

SAMANTHA GUSMÃO PELLIZZONI

**SOROPREVALÊNCIA DAS INFECÇÕES POR Herpesvírus equino (EHV-1/
EHV-4), *Sarcocystis neurona* e *Brucella* spp. EM CAVALOS DA
MICRORREGIÃO DE ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL**

Ilhéus – BA, ___/___/___

George Rêgo Albuquerque – *DSc*
UESC/DCAA
(Orientador)

Maria Amélia Fernandes Figueiredo – *DSc*
UESC/DCAA

Anaiá da Paixão Sevá – *DSc*
UESC/DCET

Sônia Carmen Lopo Costa – *DSc*
Medica Veterinária

Daniele de Santana Rocha - *PhD*
UESC/DCAA

ILHÉUS – BAHIA
2020

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a nossa estrela maior que nos guia e emana luz divina, Jesus. À minha família amada, amigos, mestres, a comunidade e aos animais.

AGRADECIMENTOS

Elevo o meu pensamento ao nosso bom Deus e agradeço pelo dom da vida. Por ser agraciada em ter uma família repleta de encontros felizes, de almas afins, companheiras e amorosas. Por ter em minha vida a benção das amizades preciosas. Obrigada pela saúde, pelo alimento do corpo e da alma, pelo meu lar, recanto de paz e escola de amor. Pela luz, pela inteligência, pelas oportunidades, por me direcionar e me inspirar sempre no caminho e na prática do bem. Por me conduzir a reforma íntima seguindo os passos de Jesus caminheiro. Pela sua proteção e amparo de amor. Muito Obrigada Senhor.

A minha mãe Ariana Gusmão pela sua generosidade, por ser fonte de amor e abrigo de luz e aconchego ao meu coração. Por me orientar, fortalecer e me conduzir sempre no bem, despertando as minhas virtudes e me fazendo ver a sutileza e a leveza do aprendizado em todas as coisas.

A minha vó Aziza Dias pelo encanto do seu cuidar, do seu amar. Pelas conversas de infinita simplicidade e sabedoria. Pelas suas preces e por toda energia de força e fé que emanam do seu ser.

As minhas Irmãs Roberta Gusmão, Thâmis Ariani Gusmão, Iasmin Gusmão, Ludimilla Costa, por serem oceanos de amor e essência divina que vitalizam o meu ser. Pela amizade que transcende este plano terrestre e por estarem sempre ao meu lado.

Ao meu esposo Leandro Murakami, alma gêmea da minha alma, benção divina, companheiro amigo dedicado, fonte segura de amor e paz, que eleva a minha vida e me conduz aos encantos desse mundo de belezas infinitas.

A minha amiga Raissa Gracie, pela sua presença em minha vida, pelo seu coração iluminado e gentil, pela sua sensibilidade e cuidado. Por ter participado ativamente na construção desta realização profissional. Obrigada pelas nossas aventuras a campo e por todo auxílio. Sua amizade é preciosa.

Agradeço a amiga Dr.^a Sônia Lopo, Médica Veterinária do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ), Itabuna, BA por compartilhar o seu trabalho, por orientar-me com tanta boa vontade, disponibilidade e desprendimento.

Agradeço a amiga e Professora Dra. Danielle Rocha por dispor de seu tempo para me auxiliar com muita gentileza no aprendizado de técnica sorológica

de diagnóstico necessária para execução deste trabalho.

Agradeço as amigas e Professoras Dr.^a Bianca Maciel e Dr.^a Maria Amélia Fernandes por toda contribuição valiosa na construção desse trabalho.

Agradeço a amiga, Medica Veterinária Dr.^a Hllytchaikra Fehlberg, pela parceria, orientações técnicas e sua doçura em sempre estar disposta a contribuir.

Agradeço ao amigo, Médico Veterinário Dr. Jonata Barbieri pela sua disposição em auxiliar nas análises estatísticas de forma impecável.

Da mesma maneira, agradeço aos amigos e colegas de profissão Priscila Murakami, Gilberto Gama, Patrick Oliveira, Aisla Nascimento, Ana Graziela Deiró, Uillians Volkart, Gildeão Galvão, Anna Gabrielle e Dionei Hass.

Com muita gratidão agradeço também aos proprietários das fazendas, tratadores e aos animais.

Aos Professores Dr. Luis Fernando Pita Gondim da Universidade Federal da Bahia, UFBA, pela atenção em disponibilizar material necessário para efetivação de parte desta pesquisa. Dr. Andrey Lage e Dr.^a Erica Costa da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, pelo acolhimento e por disponibilizarem os laboratórios para que minhas amostras pudessem ser processadas.

Ao meu orientador Professor Dr. George Rêgo Albuquerque, por ser este ser humano do bem que emana leveza e confiança, por incentivar sempre o despertar profissional, por conduzir todos os momentos durante esta trajetória com muita vitalidade e dinamismo, por ser sempre atencioso e amigo. Sou grata por trabalharmos juntos novamente.

A Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), por me proporcionar amigos, momentos inesquecíveis, vivências, conquistas e mais esta vitória.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA) em especial a coordenadora Professora Dr.^a Renata Santiago Alberto Carlos pela dedicação e excelente trabalho na condução do mesmo e ao técnico universitário Eduardo Góes Santana, por sua gentileza e auxílio.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da Bolsa de Estudos, permitindo com isso minha dedicação ao Doutorado com maior tranquilidade.

SOROPREVALÊNCIA DAS INFECÇÕES POR Herpesvírus equino (EHV-1/EHV-4), *Sarcocystis neurona* e *Brucella* spp. EM CAVALOS DA MICRORREGIÃO DE ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo determinar a soroprevalência e fatores associados à infecção por Herpesvírus equino (EHV-1/EHV-2), *S. neurona* e *Brucella* spp. em cavalos, assim como, determinar a positividade de oocistos de *S. neurona* em *Didelphis* spp. Todos os animais foram provenientes da microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil. Para o diagnóstico de Herpesvírus equino (EHV-1/EHV-2), foi utilizada a técnica de soroneutralização em microplacas, e considerados positivos animais com titulação ≥ 4 capaz de inibir 100% do efeito citopático. Para *S. neurona* foi utilizado a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) com o ponto de corte 1:80. Para *Brucella* spp. foram utilizados como triagem o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) e como confirmatório o teste de soroaglutinação lenta em tubos (SAT) com o ponto de corte 1:100 associado ao teste de redução pelo 2-Mercaptoetanol (2ME) em titulações (1:25, 1:50, 1:100, 1:200). Foram capturados 25 *Didelphis* spp. para a pesquisa de oocistos e esporocistos de *S. neurona* através do exame de fezes e da digestão do raspado da mucosa intestinal. Foi observado uma prevalência de 36,22% (IC95% = 32,44 – 40,13) de equinos soropositivos para Herpesvírus equino (EHV-1/EHV-4), com titulações de 1:4 (105), 1:8 (52), 1:16 (32), 1:32 (20), 1:64 (9), 1:128 (8). A prevalência de anticorpos anti- *S. neurona* nos equinos amostrados foi de 7,92% (IC 95%= 5,99 – 10,23), com titulações encontradas de 1:80 (94,3%), 1:160 (3,8%) e 1:320 (1,9%). A positividade de anticorpos contra *Brucella* spp. encontrados nos equinos foi de 0,15% (1 animal) com IC 95%= 0-0,83 nas titulações 1:100 (SAT) e 1:50 (2ME). Todos os *Didelphis* spp. analisados foram negativos para a presença de *S. neurona*. Este é o primeiro estudo que avalia os três agentes em cavalos. Desta forma pode-se observar a importância sanitária e econômica destas infecções para o rebanho equino da microrregião de Ilheus- Itabuna, Brasil.

Palavras-chave: Brucelose. Mieloencefalite. Rinopneumonite. Sarcocystidae.

**SEROPREVALENCE OF INFECTIONS BY Equine Herpesvirus (EHV-1/
EHV-4), *Sarcocystis neurona* and *Brucella* spp. IN HORSES OF THE
ILHÉUS-ITABUNA MICROREGION, BAHIA-BRAZIL.**

ABSTRACT

The objective of this study was to determine seroprevalence and factors associated with infection by Equine Herpesvirus (EHV-1 / EHV-2), *S. neurona* and *Brucella* spp. in horses, as well as to determine the positivity of *S. neurona* oocysts in *Didelphis* spp. All animals came from the micro region of Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brazil. For the diagnosis of equine Herpesvirus (EHV-1 / EHV-2), the micro-plate seroneutralization technique was used, and animals with a titre ≥ 4 capable of inhibiting 100% of the cytopathic effect were considered positive. For *S. neurona*, the indirect immunofluorescence reaction (RIFI) was used with the cutoff point 1:80. For *Brucella* spp. the buffered acidified antigen (AAT) test was used as a screening test, and the slow serum agglutination test (SAT) test with the 1: 100 cutoff point associated with the 2-Mercaptoethanol (2ME) reduction test in titrations (1 : 25, 1:50, 1: 100, 1: 200). 25 *Didelphis* spp. for the investigation of oocysts and sporocysts of *S. neurona* through the examination of feces and digestion of the scrape of the intestinal mucosa. A prevalence of 36.22% (95% CI = 32.44 - 40.13) of equine seropositive horses for Equine Herpesvirus (EHV-1 / EHV-4) was observed, with titrations of 1: 4 (105), 1: 8 (52), 1:16 (32), 1:32 (20), 1:64 (9), 1: 128 (8). The prevalence of anti-*S. neurone* antibodies in the sampled horses was 7.92% (95% CI = 5.99 - 10.23), with titers found of 1:80 (94.3%), 1: 160 (3.8%) and 1: 320 (1.9%). Antibody positivity against *Brucella* spp. found in horses was 0.15% (1 animal) with 95% CI = 0-0.83 in titrations 1: 100 (SAT) and 1:50 (2ME). All *Didelphis* spp. analyzed were negative for the presence of *S. neurona*. This is the first study to evaluate the three agents in horses. Thus, one can observe the sanitary and economic importance of these infections for the equine herd in the micro-region of Ilheus-Itabuna, Brazil.

Keywords: Brucellosis. Rhinopneumonitis. Myeloencephalitis. Sarcocystidae.

LISTA DE FIGURAS**REVISÃO DE LITERATURA**

Figura		Página
1	Ciclo biológico do <i>Sarcocystis neurona</i> .	28

ARTIGO CIENTÍFICO I

Figura		Página
1	Fazendas amostradas nos Municípios da Microrregião Ilhéus e Itabuna no Estado da Bahia- Brasil.	49
2	Proporção de equinos soropositivos para HVE nos municípios amostrados da Microrregião Ilhéus e Itabuna no Estado da Bahia.	51

ARTIGO CIENTÍFICO II

Figura		Página
1	Fazendas amostradas nos Municípios da Microrregião Ilhéus e Itabuna no Estado da Bahia- Brasil.	60
2	Proporção de equinos soropositivos para <i>S. neurona</i> nos municípios amostrados da Microrregião Ilhéus e Itabuna no Estado da Bahia.	66

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO I

Tabela		Página
1	Soroprevalência estratificada de herpesvírus equino EHV-1/EHV-4) em equinos amostrados da microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil e resultados da análise de regressão logística ponderada de possíveis fatores de risco para soropositividade.	52

ARTIGO CIENTÍFICO II

Tabela		Página
1	Quantidade de animais coletados por município e por propriedade, na microrregião Ilhéus- Itabuna, Bahia	61
2	Soroprevalência estratificada de <i>S. neurona</i> em equinos amostrados da microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil e resultados da análise de regressão logística ponderada de possíveis fatores de risco para soropositividade.	65
3	Detecção e distribuição de anticorpos anti- <i>S.neurona</i> em equinos em doze municípios da microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.	67

ARTIGO CIENTÍFICO III

Tabela		Página
1	Prevalência de anticorpos anti- <i>Brucella</i> spp. em equinos, por município, na Microrregião Ilhéus- Itabuna do Estado da Bahia- Brasil.	79

LISTA DE QUADRO**REVISÃO DE LITERATURA**

Quadro		Página
1	Principais herpesvírus responsáveis por infecções em alguns membros da família <i>Equídea</i> e suas principais características clínicas.	20
2	Prevalência de herpesvírus equino tipo 1 e tipo 4 em equinos, nos diferentes estados do Brasil.	23
3	Soroprevalência de <i>Sarcocystis neurona</i> em equinos em diferentes países.	34
4	Soroprevalência de <i>Sarcocystis neurona</i> em equídeos no Brasil.	35

ARTIGO CIENTÍCO I

Quadro		Página
1	Detecção e distribuição de anticorpos anti- EHV em equinos por município amostrado, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAT	Antígeno Acidificado Tamponado
BHV	Herpesvírus Bovino
CEUA	Conselho de Ética no Uso de Animais
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio Imunoenzimático Indireto
EHV-1	Herpesvírus equino tipo 1
EHV-4	Herpesvírus equino tipo 4
GPS	Sistema de Posicionamento Global
G	Força G
IC	Intervalo de Confiança
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LCR	Líquido cefalorraquidiano
MPE	Mieloencefalite Protozoária Equina
MDBK	Madim-Barby
2-ME	2-Mercaptoetanol
OR	OR: chances de ocorrer (<i>odds ratio</i>)
OIE	Organização Mundial da Saúde Animal
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal
PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
SAT	Soroaglutinação Lenta em Tubos
SNC	Sistema Nervoso Central
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	18
2.1. OBJETIVO GERAL	18
3. REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1. Herpesvírus equino	19
3.1.1. Etiologia	19
3.1.2. Epidemiologia e Fatores de Risco.....	21
3.1.3. Patologia e Sinais clínicos	23
3.1.4. Transmissão.....	25
3.1.5. Diagnóstico	25
3.2. Mieloencefalite protozoária equina (MPE)	27
3.2.1. Etiologia	27
3.2.2. Ciclo biológico do <i>Sarcocystis neurona</i>	27
3.2.3. Mecanismos de Transmissão	29
3.2.4. Patogenia e Sinais clínicos	29
3.2.5. Diagnóstico	31
3.2.6. Epidemiologia e Fatores de risco	33
3.3. Brucelose equina	37
3.3.1. Etiologia	37
3.3.2. Epidemiologia	38
3.3.3. Transmissão.....	39
3.3.4. Patogenia	40
3.3.5. Sinais Clínicos	41
3.3.6. Aspectos Zoonótico.....	42
3.3.7. Diagnóstico	43
4. ARTIGO CIENTÍFICO I	46
RESUMO	47
4.1. INTRODUÇÃO	48
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	48
4.2.1. População em estudo e Coleta das amostras.....	48
4.2.2. Coleta de Informações com o uso do formulário de entrevista.....	49

4.2.3. Sorologia.....	49
4.2.4. Análise Estatística.....	50
4.3. RESULTADOS	50
4.4. DISCUSSÃO	52
REFERÊNCIAS.....	53
5. ARTIGO CIENTÍFICO II.....	56
RESUMO.....	57
5.1. INTRODUÇÃO	58
5.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	59
5.2.1. Área de estudo.....	59
5.2.2. Coleta de sangue dos equinos.....	60
5.2.3. Detecção de anticorpos anti- <i>S. neurona</i>	61
5.2.4. Coleta de Informações com o uso do formulário de entrevista.....	62
5.2.5. Captura dos <i>Didelphis</i> spp.....	62
5.2.6. Coleta material biológico do <i>Didelphis</i> spp.....	62
5.2.7. Diagnóstico do <i>S. neurona</i> em <i>Didelphis</i> spp.....	63
5.2.7.1. Exame de fezes dos gambás.....	63
5.2.7.2. Digestão da mucosa intestinal.....	63
5.2.7.3. Microscopia de identificação.....	64
5.2.8. Análise Estatística.....	64
5.3. RESULTADOS	64
5.4. DISCUSSÃO	68
5.5. CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS.....	70
6. ARTIGO CIENTÍFICO III	75
RESUMO.....	76
6.1. INTRODUÇÃO	77
6.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	77
6.2.1. População estudada e coleta das amostras	78
6.2.2. Coleta de Informações com o uso do formulário de entrevista.....	78
6.2.3. Diagnóstico	78
6.2.4. Análise Estatística	78
6.3. RESULTADOS	78

6.4. DISCUSSÃO	80
REFERÊNCIAS.....	81
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84
REFERÊNCIAS.....	86
APÊNDICES.....	109
ANEXOS.....	110

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho de equídeos da América do Sul e o terceiro maior do mundo. São oito milhões de animais, distribuídos em todo o território nacional. Diante deste cenário observa-se que a equídeocultura no Brasil possui uma grande relevância econômica e social, visto que somente a criação de cavalos movimenta R\$ 7,3 bilhões por ano e gera 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (BRASIL, 2016a). A Região Nordeste aparece na primeira posição com 23,2% do efetivo nacional de equinos e a Bahia ocupa o terceiro lugar no ranking com 8,6% do plantel nacional de equinos (IBGE, 2016).

Na microrregião de Ilhéus-Itabuna, no estado da Bahia, após a crise da lavoura cacaeira vários produtores transferiram o foco dos investimentos para a pecuária e outras atividades mais remuneradoras (MASCARENHAS, 1993). Diante deste cenário a equinocultura foi vislumbrada como cenário ideal para o desenvolvimento social e econômico das atividades agropecuárias devido a versatilidade do agronegócio equino.

A importância do agronegócio equino nesta microrregião caracteriza-se pela sua ampla distribuição e extensão de nichos explorados, envolvendo: prática de esportes equestres (vaquejada, argolinha, prova do tambor, competição de marcha); atividade de lazer; cavalgadas; turismo, atividade terapêuticas, exposições; reprodução, banco genético; meio de transporte, utilização militar, trabalho diário nas atividades agropecuárias, segmentos de selaria, produtos e serviços veterinários e setor frigorífico.

Apesar do crescimento da população de equídeos e consequentemente do agronegócio da equinocultura na microrregião Ilhéus- Itabuna, observa-se uma falta de profissionalismo da atividade equestre e propriedades com manejo deficiente, o que compromete a eficiência e o contínuo crescimento deste mercado na região.

Diante destas carências, os equinos apresentam uma maior probabilidade de albergar patógenos tanto por baixa imunidade, como por exposição ao agente devido a deficiência de medidas preventivas e de controle. Estes agentes podem ser possíveis causadores de prejuízos à saúde do animal, à saúde pública e a

economia do agronegócio equino.

O protozoário *Sarcocystis neurona* é o principal agente da Mieloencefalite Protozoária Equina (MPE), doença caracterizada por um quadro neurológico debilitante e progressivo. O sinal clínico está associado ao local da lesão, sendo característico a incoordenação motora manifestada com andar cambaleante, arrastamento das pinças e tropeços no solo (THOMASSIAN, 2005). Pode ainda manifestar paresia, posição de decúbito, flacidez, paralisia da língua e ataxia (VASCONCELLOS, 1995; CORREA, 2002; RADOSTITS, et. al. 2002). Por se tratar de uma doença que acomete o SNC pode levar o animal a sequelas mesmo após o tratamento e conseqüentemente diminuição do desempenho zootécnico do animal e perdas econômicas.

A brucelose é uma doença infecciosa de evolução crônica, causada quase que exclusivamente pela bactéria *Brucella abortus* e, eventualmente, pela *Brucella suis*, que invade o organismo do animal pela via digestória com alimentos, água e fômites contaminados por líquidos e restos de abortos de bovinos e, ocasionalmente, de outros cavalos infectados (THOMASSIAN, 2005). As lesões mais sugestivas da doença são representadas por inflamações de caráter purulento em bursas, ligamentos, tendões, sinoviais e articulações, preferencialmente na região da cernelha ou na espinha da escápula, com presença ou não de fístulas (VASCONCELLOS et al., 1987; PAULIN, 2003).

A brucelose equina merece preocupação em virtude do seu potencial zoonótico, devido aos equinos constituírem fonte de infecção para outras espécies domésticas e para o homem. A infecção provoca debilidade orgânica nos equinos e prejuízos decorrentes da eutanásia dos animais infectados, já que a eliminação do agente é muito difícil (RIBEIRO et al., 2003).

O herpesvírus equino (EHV-1 e EHV-4), são membros da subfamília Alphaherpesvirinae, são altamente patogênicos aos equinos e podem causar diversidade de sinais clínicos, que envolve as vias respiratórias, induções ao aborto, mortalidade neonatal e danos neurológicos resultando em paralisia (MUMFORD, et al., 1980; GALOSI, et al., 2001). Tem como característica a manutenção da infecção de forma latente no qual permite a sobrevivência e a disseminação do vírus dentro da população de hospedeiros naturais, mantendo a infecção presente na região (PARADIS, et al., 2006).

Sarcocystis neurona, *Brucella* spp. e o Herpesvírus equino (EHV-1/EHV-4) são agentes infecciosos de grande importância na Medicina Veterinária por causar manifestações clínicas debilitantes nos equinos, impacto negativo na condição sanitária do plantel, queda do desempenho zootécnico, inviabilidade econômica e nos casos correlacionados a *Brucella* spp. os riscos gerados quanto a integridade sanitária animal e segurança na saúde pública devido ao risco do potencial zoonótico. Devido à ausência de estudos destes agentes na microrregião Ilhéus- Itabuna, Bahia, se faz necessário conhecer a situação epidemiológica dessas infecções, para que se possam adotar as devidas medidas de controle e erradicação.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar soroprevalência da infecção por Herpesvírus equino (EHV-1/EHV-4), *S. neurona* e *Brucella* spp. na população de equinos da microrregião de Ilhéus e Itabuna, Bahia, bem como os possíveis fatores de risco associados. Assim como, realizar a determinação da positividade de esporocistos de *S. neurona* em *Didelphis* spp.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Herpesvírus equino

3.1.1. Etiologia

Herpesvírus equino (EHV) são vírus DNA, pertencente à família Herpesviridae, possuindo envelope, com nucleocapsídeos de formato icosaédrico. O vírus replica no núcleo e matura por brotamento através da membrana citoplasmática e, assim, adquire o envelope (MURPHY et al., 1999).

Os herpesvírus de equinos são patógenos altamente bem-sucedidos em todos os membros da família Equidae. Até o momento já foram identificadas 14 espécies de herpesvírus que acometem os equídeos (KLEIBOEKER et al., 2004; EHLERS et al., 2008; PAILLOT et al., 2008; ICTV, 2009; OSTERRIEDER et al., 2010; KING et al., 2011). Destes herpesvírus, cinco são conhecidos por infectar cavalos, três são alfa herpesvírus, denominados herpesvírus equino 1 (EHV-1), herpesvírus equino 3 (EHV-3) e herpesvírus equino 4 (EHV-4) e dois são gama herpesvírus: herpesvírus equino 2 (EHV-2) e herpesvírus equino 5 (EHV-5).

A nomenclatura taxonômica desses agentes foi determinada pela ordem de descoberta ou de classificação como herpesvírus, porém nem todos estão relacionados com a manifestação de enfermidade em cavalos. Os principais herpesvírus responsáveis por infecções em alguns membros da família *Equídea* e suas principais características clínicas estão descritos no quadro 1.

Quadro1. Principais herpesvírus responsáveis por infecções em alguns membros da família *Equídea* e suas principais características clínicas.

Vírus	Sinônimos	Hospedeiro natura	Principais Sinais clínicos
EHV-1	Vírus do abortamento equino (antigo EHV-1 subtipo 1)	<i>Equus caballus</i>	Respiratório, abortamento, neurológico
EHV-2	Antigo citomegalovírus equino	<i>Equus caballus</i>	Rinite e conjuntivite
EHV-3	Vírus do exantema coital equino	<i>Equus caballus</i>	Exantema coital
EHV-4	Vírus da rinopneumonite equina (antigo EHV-1 subtipo 2)	<i>Equus caballus</i>	Respiratório
EHV-5	Antigo citomegalovírus equino	<i>Equus caballus</i>	Não associado
EHV-6	Herpesvírus asinino tipo 1 (AHV-1 ou AsHV-1)	<i>Equus asinus</i>	Exantema coital
EHV-7	Herpesvírus asinino tipo 2 (AHV-2 ou AsHV-2)	<i>Equus asinus</i>	Não associado
EHV-8	Herpesvírus asinino tipo 3 (AHV-3 ou AsHV-3)	<i>Equus asinus</i>	Rinite
EHV-9	Herpesvírus de gazela (GHV) Herpesvírus de zebra	<i>Equus grevyi</i>	Neurológico
AHV-4	Herpesvírus asinino tipo 4 (AHV-4 ou AsHV-4)	<i>Equus asinus</i>	Pneumonia
AHV-5	Herpesvírus asinino tipo 5 (AHV-5 ou AsHV-5)	<i>Equus asinus</i>	Pneumonia
AHV-6	Herpesvírus asinino tipo 6 (AHV-6 ou AsHV-6)	<i>Equus asinus</i>	Pneumonia
ZHV ou EzebGHV-1	Herpesvírus de zebra tipo 1	<i>Equus zebra</i>	Não associado
WAHV	Herpesvírus de jumento selvagem	<i>Equus somalicus</i>	Não associado

Fonte dos Dados Brutos: KING et al.,2011.

Nos equinos os herpesvírus causam uma variedade de infecções indo de doenças subclínicas a fatais. O EHV-1 e EHV-4 são clinicamente, economicamente e epidemiologicamente os mais relevantes patógenos. As diferenças entre eles 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 (RIETCORREA et al., 1998; ARDANS, 2003).

3.1.2. Epidemiologia e Fatores de Risco

Os EHV-1 e EHV-4 são enzoóticos em populações de equinos, com a maioria dos animais demonstrando evidências sorológicas de exposição ao vírus (WILSON & PUSTERLA, 2004; PATEL & HELDENS, 2005). Esses vírus alfa herpes são caracterizados por infecção lítica e pode estabelecer uma infecção latente ao longo da vida no sangue circulante e linfócitos residentes em linfonodos, bem como nos neurônios sensoriais dentro dos gânglios trigêmeos, que podem reativar após o estresse (CHESTERS et al., 1997; OLADUNNI et al., 2019).

A reativação da infecção latente é importante na epidemiologia da doença e pode explicar porque a doença ocorre em populações fechadas, sem a introdução de um novo cavalo (WILSON & PUSTERLA, 2004; LUNN et al., 2009).

Sinais da infecção por herpesvírus equino podem ocorrer em cavalos onde o estresse está associado ao reaparecimento da infecção (WILSON & PUSTERLA, 2004; NUGENT & PAILLOT, 2009).

Essas situações de estresse estão relacionadas a diversos estímulos como transporte prolongado, competições, animais imunocomprometidos, desmame, cirurgias, estabulação, parto, lactação, desnutrição e superlotação (EDINGTON et al., 1985; CHRINSIDE et al., 2000; PATEL & HELDENS, 2005; FRANCO, 2012; NORONHA & ANTCZAK, 2012).

Araripe et al. (2014) avaliando cavalos de vaquejada no estado do Ceará verificou que 41,2% foram soropositivos para EHV-1 e/ou EHV-4.

Gilkerson et al. (1999) na Austrália verificaram que as éguas são a principal fonte de infecção primária de EHV-1 para potros em fase de lactação, tendo uma prevalência de 26,2% nas éguas e 11,4% em potros. Quando testados para anticorpos contra EHV-4 99% das éguas e potros foram positivos.

Em estudo realizado por Wilson & Pusterla (2004) com matérias coletados nos hospitais veterinários na América do Norte e Europa verificaram que muitos cavalos se tornam infectados pelo EHV-1 ou EHV-4 no primeiro ano de vida. O mesmo foi observado por Hirsh (2003), nos EUA no qual 85% dos potros testados entre 6 a 8 meses pós-desmame foram inicialmente soropositivos para EHV-1. Foote et al. (2004) na Austrália encontraram a presença de DNA de EHV-1 e EHV-4 em swabs nasais de um grupo de potros com média de 40 dias e alguns dos quais com apenas 11 dias de idade, sendo 27% dos potros positivos. E Gardiner et al. (2012) nos EUA isolaram o EHV-1 a partir da membrana cório-alantoide de éguas infectadas que deram à luz a potros prematuros que eliminaram o EHV-1 na primeira semana de vida.

Contudo, estudos sorológicos têm demonstrado que a infecção por EHV-1 ocorre em potros e animais jovens, porém tem maior propagação entre animais mais velhos durante os períodos de recrudescência e doença (GIKERSON, 2008).

Lara et al. (2003b) em estudo realizado em São Paulo, observaram aumento gradativo e significativo da taxa de prevalência de EHV-1 com o evoluir da idade dos animais, havendo prevalência de 40,4% nos equinos mais velhos.

Testes sorológicos realizados para evidenciar a presença de anticorpos contra o EHV-1 e EHV-4 têm demonstrado que esses vírus estão disseminados em todos os países do mundo (DOLL et al., 1957; GIRARD et al., 1963; PASCOE et al., 1969; FOOTE et al., 2004; VISSANI et al., 2009; PRONOST et al., 2012; VAN GALEN et al., 2015; CASTRO & ARBIZA, 2017; OLADUNNI et al., 2019; AZAB et al., 2019).

No Brasil observa-se os dados de levantamentos sorológicos de equinos infectados pelo herpesvírus equino (HVE-1 e HVE-4) em diferentes regiões do país. Quadro 2.

Quadro 2. Prevalência de herpesvírus equino tipo 1 e tipo 4 em equinos, nos diferentes estados do Brasil.

Localidade	N	% de positivos	Técnica	Autores
RS	1.506	4,5	SN	DIEL et al. (2006)
PR (Curitiba)	97	5,2	SN	LARA et al. (2006)
MG	217	11,8	PCR	COSTA et al. (2015)
PR (Curitiba)	70	14,3	SN	LARA et al. (2003a)
MG	826	17,6	SN	LARA et al. (2010)
PR (Curitiba)	299	17,7	SN	MOREIRA et al. (2000)
PA (Uruara)	96	17,71	SN	HEINEMANN et al. (2002)
RO (Monte Negro)	176	22,7	SN	AGUIAR et al. (2008)
SP (sul)	163	26,0	SN	CUNHA et al. (2009)
SP (Noroeste)	1341	27,2	SN	CUNHA et al. (2002)
RJ	581	29,6	SN	DIAZ et al. (2015)
SP	659	33,4	SN	LARA et al. (2003b)
PA (sul)	506	45,45	SN	PENA et al. (2006)
SP	300	92,3	SN	GAMA (1992)

SN: Soroneutralização, PCR: Reação em Cadeia pela Polimerase.

3.1.3. Patologia e Sinais clínicos

O EHV-1 foi relatado primeiro por Manninger (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 & 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 & 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 & 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 (REED & TORIBIO, 2004).

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 (REED & TORIBIO, 2004).

A encefalopatia nos equinos está descrita como sendo provocada pelo herpesvírus equino do tipo 1 (EHV-1), havendo apenas referência esporádica ao herpesvírus tipo 4 (EHV-4), habitualmente associado a patologia respiratória (ROMÃO et al., 2005).

Na forma neurológica da doença, o vírus está associado com os vasos sanguíneos do sistema nervoso central onde causa uma vasculite imunomediada. Esta vasculite leva à inflamação local do sistema nervoso central, com obstrução de vasos sanguíneos e perda de suprimento sanguíneo local (BENTZ, 2001).

O início agudo dos sinais clínicos de mieloencefalopatia parece resultar de vasculites e trombozes de arteríolas no cérebro e, especialmente, na medula espinhal. Isto causa prejuízo no fluxo sanguíneo e trocas metabólicas e, em casos graves hipóxia, degeneração e necrose com hemorragia dentro de tecidos neurais adjacentes da substância branca e em menor extensão da cinzenta (MOREIRA, 2012).

3.1.4. Transmissão

Os Herpesvírus são altamente contagiosos e sua transmissão ocorre pela inalação de aerossóis provenientes do trato respiratório ou pela ingestão de alimentos e água contaminada por secreções (KOTAIT, 1991; MUMFORD, 1994; ALLEN, 2002b). A transmissão via fômite também pode ocorrer, por exemplo, quando o mesmo endoscópio é utilizado em diversos indivíduos, sem desinfecção prévia (ALLEN, 2002a).

Além disso, Carvalho et al. (2000a) apontam o sêmen de garanhões persistentemente infectados como potencial transmissor, durante a cópula, inseminação artificial e durante a gestação por via transplacentaria. Foram detectados o EHV- 1 nas fezes de potros infectados experimentalmente que desenvolveram diarreia, salientando a de disseminação fecal (WILSON & PUSTERLA, 2004).

3.1.5. Diagnóstico

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 e laboratoriais (REED & TORIBIO, 2004).

Os métodos de diagnóstico laboratorial para herpesvírus equino incluem o isolamento do vírus, a reação em cadeia de polimerase (PCR) e provas sorológicas (ALLEN et al., 2002).

Os anticorpos policlonais ao EHV-1 e ao EHV-4 possuem altas taxas de reação cruzada por isso determinações sorológicas de infecção causada por qualquer um dos dois tipos virais tem sido difícil (MORI et al., 2005).

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. Porém a desvantagem é que se faz necessário 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 (LAWRENCE et al., 1994). Costa et al. (2008), usaram a técnica de PCR e sequenciamento em um estudo de caso com um equino com sinais neurológicos, e detectaram o EHV-1.

Para diagnosticar a presença de anticorpos contra herpesvírus, pode-se lançar mão de testes imunológicos, como ELISA, a soroneutralização e a fixação de complemento.

Foi desenvolvido um teste ELISA capaz de distinguir animais infectados por EHV-1 e por EHV-4 (CRABB et al., 1995). Nesse estudo foi avaliado a prevalência específica para o EHV-1 em 97 cavalos australianos puros. Observou pelo teste de ELISA que a prevalência foi 30% para EHV-1, quando avaliado nestes animais o EHV-4, verificou que a prevalência foi 100%.

No Brasil as provas de sorodiagnóstico mais empregadas rotineiramente, são: a fixação de complemento e a soroneutralização viral, estas possuem uma alta sensibilidade e especificidade na identificação dos anticorpos EHV. Porém são ineficientes na diferenciação dos tipos 1 e 4 do EHV devido às reações cruzadas (CRABB & STUDDERT, 1993).

O diagnóstico diferencial é importante para conhecer o agente envolvido e desenvolver medidas terapêuticas, preventivas e de controle de forma adequada. Algumas enfermidades em equinos apresentam sinais clínicos semelhantes aos EHV-1 e EHV-4, sendo estes: vírus da influenza, adenovírus, rinovírus, o vírus da arterite equina, Mieloencefalite virais e protozoária (ALLEN, 2002a).

3.2. Mieloencefalite Protozoária Equina (MPE)

3.2.1. Etiologia

Sarcocystis neurona, protozoário do Filo Apicomplexa, Ordem Eucoccidiida e Família Sarcocystidae, é o principal agente etiológico da mieloencefalite protozoária equina (MPE), importante afecção neurológica que acomete os equinos no continente americano (DUBEY et al., 2015).

Os primeiros casos da doença foram relatados nos Estados Unidos por Rooney et al. (1970), como uma mielite segmentar. Anos depois outros autores descreveram casos semelhantes, simultaneamente e atribuíram as lesões ao protozoário *Toxoplasma gondii* (BEECH & DODD, 1974; CUSICK et al., 1974; DUBEY et al., 1986; BARROS et al., 1986). Simpson e Mayhew, (1980), demonstraram através de cortes histopatológicos de tecido nervoso que os parasitas não eram *Toxoplasma gondii*, mas os protozoários do gênero *Sarcocystis*, sendo nomeado como *Sarcocystis neurona* por Dubey et al. (1991).

3.2.2. Ciclo Biológico do *Sarcocystis neurona*

O hospedeiro definitivo do parasito é o gambá, identificado na América do Norte o *Didelphis virginiana* (DUBEY & LINDSAY, 1998), e na América do Sul o *Didelphis albiventris* (DUBEY et al., 2001), no continente sul-americano outras espécies de gambás (*D. aurita* e *D. marsupialis*) podem estar envolvidas com a transmissão do *S. neurona* (SILVA et al., 2003).

No gambá, *S. neurona* faz a reprodução sexuada entre microgamontes (gametas masculinos) e macrogamontes (gametas femininos). A união destes origina oocistos não esporulados, que esporulam dentro do hospedeiro definitivo, composto de dois esporocistos e cada esporocisto com quatro esporozoítos. Os esporocistos são liberados no ambiente junto com as fezes do gambá, e podem ser ingeridos pelos hospedeiros intermediários naturais ou pelos hospedeiros acidentais, como os equinos (DUBEY et al., 2001).

Os hospedeiros intermediários de *S. neurona*, incluem uma variedade de mamíferos, entre eles estão jaritatacas, guaxinins, tatus, gatos e lontras

marinhas, sendo que estes se infectam ingerindo esporocistos presentes nas fezes de gambás, desenvolvendo as formas de esquizonte em seu SNC e sarcocisto em músculos esqueléticos, cardíaco e cérebro (DUBEY et al., 2015).

Os equinos são considerados como hospedeiros acidentais, porque estes se infectam acidentalmente quando ingerem água e alimentos contaminados com as fezes dos gambás que possuem esporocistos infectantes. Após ingestão ocorre liberação de esporozoítos no intestino delgado e inicia-se a reprodução assexuada no endotélio vascular, onde os esporocistos migram do trato intestinal para a corrente sanguínea, ultrapassam a barreira hematoencefálica e migram para o cérebro, medula espinhal e outras partes do SNC, e originam os esquizontes, em um processo denominado esquizogonia. Os esquizontes se dividem em vários merozoítos, por meio da endopoligenia (MACKAY et al., 2001; DUBEY et al., 2015). Essas duas formas do parasito ocorrem simultaneamente e formam um vacúolo parasitóforo no citoplasma das células parasitadas, sejam estas neurais ou inflamatórias (DUBEY et al., 2001). (Figura 1).

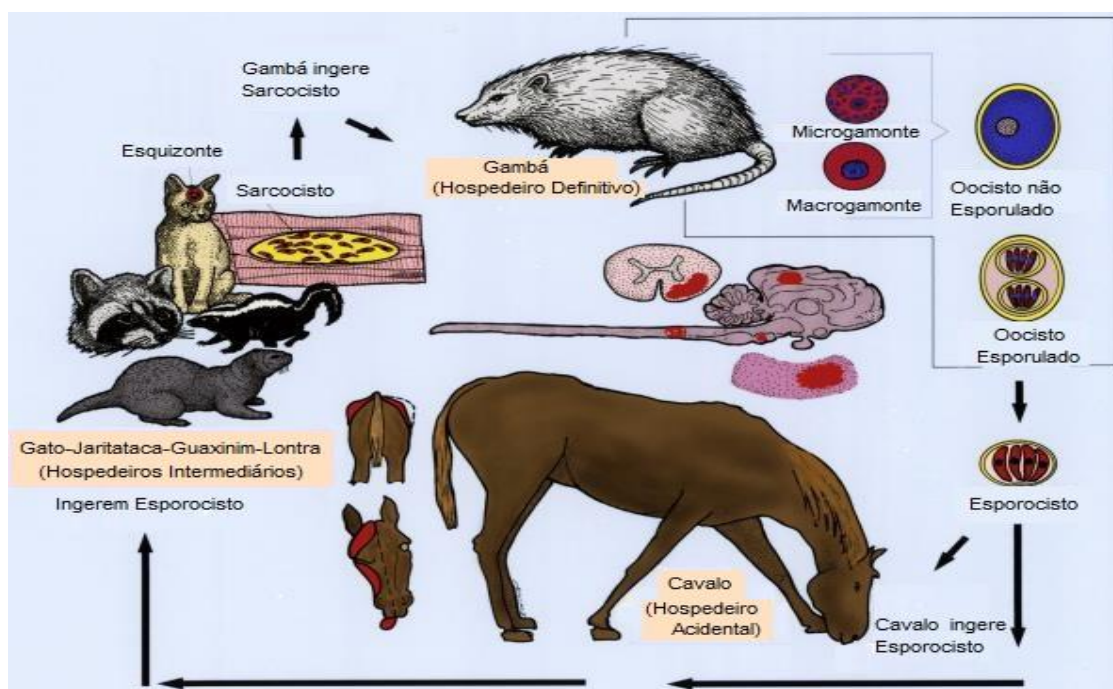


Figura 1. Ciclo biológico do *Sarcocystis neurona*. Em vermelho a distribuição das lesões no cérebro e na medula espinhal de cavalos. (Adaptado de DUBEY et al., 2015).

Em alguns equinos, eles migram para o SNC, onde continuam a reprodução assexuada nos neurônios e células da micróglia, sem formar cistos teciduais. Os merozoítos existem livres no citoplasma das células do SNC, sugerindo que esses merozoítos do *S. neurona* nunca se maturem para a

segunda geração de divisão, sendo assim, sem a fase infectante, os cavalos não podem transmitir o protozoário para nenhum outro animal, incluindo outros cavalos e, até mesmo os gambás (REGO, 2000).

3.2.3. Mecanismos de Transmissão

A transmissão do *S. neurona* ocorre quando o gambá (*Didelphis* spp.), se infecta após a ingestão de tecidos de hospedeiros intermediários contendo sarcocistos do parasito e libera esporocistos nas fezes (DUBEY et al., 2001). O equino acidentalmente se infecta após ingerir alimentos e água contaminada com os esporocistos presentes nas fezes do gambá infectado com *S. neurona*. Acredita-se que os hospedeiros intermediários naturais de *S. neurona* também adquiram a infecção dessa maneira (LOPES, 2004).

Nos equinos não ocorre a infecção transplacentária (COOK et al., 2001; DUARTE et al., 2004ab), apesar de que recentemente foram relatados indícios desta via de transmissão em mamíferos aquáticos, como focas, leões marinhos e baleias (PUSTERLA et al., 2014b; DUBEY et al., 2015).

3.2.4. Patogenia e Sinais Clínicos

Estudos com camundongos geneticamente modificados, alimentados com esporocistos de *S. neurona*, indicam que o parasita inicialmente se multiplica numa extensão limitada de tecidos viscerais, sendo depois transportados para o SNC no interior dos leucócitos, escapando assim da ação dos anticorpos (LINDSAY et al., 2006).

Três semanas após infecção nos equinos, os parasitas já se encontram no sistema nervoso central (SNC). Os esquizontes do *S. neurona* e os merozoítos são encontrados em neurônios, células mononucleares, células da glia e talvez em outras células neurais, multiplicando-se no seu interior (DUBEY et al., 2001). Após multiplicação e associação do processo inflamatório, observa-se malácia e reação inflamatória não supurativa. Macroscopicamente observa-se a presença de hemorragia multifocal de forma aleatória, distribuídas nos tecidos do SNC (DUBEY et al., 2015).

Os sinais clínicos da Mieloencefalite protozoária equina (MPE) são extremamente variáveis. Possui uma sintomatologia progressiva e debilitante em consequência da lesão neuronal direta provocada pelo parasito ou danos secundários provocados pela resposta inflamatória. Alguns cavalos aparentemente podem desenvolver imunidade a infecção por *S. neurona*, e os eliminam sem mostrar evidências clínicas de infecção. Já outros cavalos desenvolvem os sinais clínicos da MPE quando *S. neurona* passa pela medula espinhal, tronco cerebral e cérebro causando lesões. Em casos raros, lesões podem estar presentes tanto no cérebro quanto na medula espinhal de um cavalo (FENGER, 1997; DUBEY et al., 2015).

Frequentemente a medula é a área mais afetada e a lesão mais comumente apresentada é uma alteração na locomoção, com o comprometimento de um ou mais membros. Dependendo da localização das lesões na medula podem causar incoordenação motora, fraqueza, atrofia lombar, ataxia assimétrica dos membros posteriores, tendência do animal de se inclinar para um lado, incontinência urinária e atrofia focal dos membros posteriores com marcha assimétrica, sendo este último sinal clínico típico da MPE, que a diferencia de outras encefalomyelites (LOPES, 2004; DUBEY et al., 2015).

Quando as lesões ocorrem no tronco cerebral e nos núcleos dos nervos cranianos, observa-se depressão, ataxia, paralisia facial, protrusão, flacidez e paralisia da língua, atrofia dos músculos temporal e masseter e disfagia. Quando *S. neurona* passa pelo cérebro leva o animal a depressão, alterações no comportamento, cegueira e diminuição das respostas sensoriais à ameaça no lado da face contralateral à lesão (SMITH, 1994; LOPES, 2004).

3.2.5. Diagnóstico

O diagnóstico pode ser baseado no histórico do animal, avaliando os sinais clínicos e sua evolução, deve-se realizar a exclusão de outras enfermidades, verificar a eficiência da resposta terapêutica e utilizar de métodos de imunodiagnóstico (DUBEY et al., 2001; DUBEY et al., 2015).

As técnicas comumente utilizadas para o diagnóstico da MPE são a medição do teor de albumina, histopatologia, imunistoquímica, análise de immunoblot, western blot, ELISA, RIFI e métodos moleculares (DUBEY et al., 2015).

A relação entre a concentração de albumina do líquido cefalorraquidiano (LCR) e soro pode ser um indicador de lesões que afetam a barreira hematoencefálica. Nos casos de MPE essa proporção é alta. Deve-se ter cuidado na sua interpretação, especialmente considerando a frequência relativa de contaminação do líquido cefalorraquidiano com sangue durante a coleta da amostra (DUBEY et al., 2001; FINNO et al., 2007).

Na avaliação histopatológica as lesões de MPE encontradas são variáveis devido ao tipo de resposta inflamatória provocada no local onde o *S. neurona* está localizado. As lesões estão sempre confinadas ao sistema nervoso central. Lesões macroscópicas são mais frequentes em casos agudos, pequenos e múltiplos focos hemorrágicos distribuídos aleatoriamente ao longo da medula e cérebro. Nos casos subagudos e áreas com lesões crônicas eles são apresentados como múltiplos focos com mudanças de cor, sendo capaz de ser mais pálido ou pigmentado escuro (MOREÉ et al., 2011).

As lesões microscópicas apresentam-se predominantemente como focos hemorrágicos de inflamação, não supurativas e pequenos pontos de necrose. Observa-se frequentemente infiltrado com mistura de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, células gigantes e macrófagos especialmente em meninges (BEECH et al., 1974; DUBEY et al., 1974; DUBEY et al., 2001).

A técnica de imunohistoquímica permite localizar o parasita em tecidos, porém identificá-lo corretamente e associá-lo a áreas de lesões é difícil e pouco frequente devido à ampla distribuição do protozoário (MOREÉ et al., 2011).

A sorologia é a principal ferramenta no diagnóstico *ante mortem* da MPE, uma vez que a detecção direta do parasita é muito difícil antes da necropsia. Mediante o *status* sorológico, combinado à avaliação clínica, são tomadas as medidas terapêuticas. No entanto, a presença de anticorpos contra *S. neurona* indica exposição ao agente, mas não necessariamente persistência da infecção (ANTONELLO et al., 2015).

Para fazer o diagnóstico sorológico utiliza-se o soro e/ou o fluido cefalorraquidiano dos equinos a serem analisados e os merozoítos cultivados para detectar anticorpos direcionados contra proteínas únicas do *S. neurona*. O ideal é fazer a sorologia do líquido que indica que os parasitas penetraram na barreira hematoencefálica e estimularam uma resposta imune local (SILVA et al., 2003).

O ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) para o antígeno de superfície 2 (SAG2 4/3 ELISA) é o método mais acurado para o diagnóstico sorológico de *S. neurona* apresentando sensibilidade e especificidade superiores a 90% (YEARGAN et al., 2013).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é uma excelente escolha, apresentando uma sensibilidade de 94% e especificidade de 88,9%. O teste permite quantificar a infecção por meio do título final de anticorpos (DUARTE et al., 2003; JOHNSON et al., 2013).

A introdução de um teste de imunofluorescência indireta (RIFI) para a detecção de anticorpos específicos contra *S. neurona*, permitiu que os médicos veterinários especializados em equinos realizassem a detecção da doença nos animais com déficits neurológicos de forma a auxiliar no tratamento (DUARTE et al., 2004).

O teste Western blot, também chamado de teste immunoblot, foi o primeiro teste desenvolvido para detecção de anticorpos contra *S. neurona* e diagnóstico de MPE (GRANSTROM et al., 1993). Porém é uma ferramenta de pesquisa que é bastante trabalhosa e requer experiência para interpretar com precisão. Apresenta uma sensibilidade de 89% e especificidade de 69% (DUBEY et al., 2001; DAFT et al., 2002; DUARTE et al., 2003).

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) é específica para o DNA do parasita, confirmando a presença do *S. neurona* no SNC. Apesar disso, a sensibilidade da PCR para a MPE é baixa devido ao fato de que, o DNA do

parasita pode ser rapidamente destruído pela ação das enzimas presentes no LCR ou pela escassez de DNA no mesmo (STELMANN & AMORIM, 2010).

Por se tratar de uma enfermidade que apresenta como principal sinal clínico alterações neurológicas, o diagnóstico diferencial do *S. neurona* com outros agentes infecciosos se faz necessário para que as tratativas terapêuticas adequadas sejam realizadas de forma eficiente. Pois sabe-se que as alterações neurológicas podem decorrer de diversas situações como traumas, mielopatia estenótica cervical, mieloencefalopatia degenerativa equina, mieloencefalopatia causada por EHV-1, meningite, osteomielite vertebral, raiva, abscesso cerebral, anormalidade congênita, tétano e toxinas botulínicas (SILVA, 2003; STELMANN, 2014).

3.2.6. Epidemiologia e Fatores de Risco

A abrangência da MEP acompanha a distribuição geográfica do hospedeiro definitivo de *S. neurona* (*Didelphis* spp.) presente nas Américas (DUBEY, 2000; DUARTE et al., 2003).

A maior incidência de MEP ocorre nas Américas, em países como Estados Unidos, Brasil e Argentina. Casos de Mieloencefalite protozoária equina também foram diagnosticados em países da Europa, África do Sul e Ásia, porém em animais importados de países da América (MAYHEW & GREINER, 1986; RONEN, 1992; LAM et al., 1999).

Observa-se no quadro 3 a soroprevalência de *S. neurona* em diferentes países do mundo.

Quadro 3. Soroprevalência de *Sarcocystis neurona* em equinos em diferentes países.

Localidade	N	% de positivos	Técnica	Ponto de Corte	Autores
Índia	123	0,8	WB	-	(BROWN et al., 2006)
Estados Unidos	484	6,00	RIFI	01:40	(DUARTE et al., 2004)
Argentina	640	26,10	WB	-	(MORÉ et al., 2014)
Estados Unidos	3123	27,60	RIFI	1:80	(PUSTERLA et al., 2014a)
Estados Unidos (norte do Colorado)	608	33,60	WB	-	(TILLOTSON et al., 1999)
Argentina	76	35,50	WB	-	(DUBEY et al., 1999b)
Estados Unidos (Oregon)	334	45,00	WB	-	(BLYTHE et al., 1997)
Estados Unidos (sudeste da Pensilvânia)	117	45,30	WB	-	(BENTZ et al., 1997)
México	495	48,50	ELISA	1:100	(YERGAN et al., 2013)
Estados Unidos (81 condados de Ohio)	1056	53,00	WB	-	(SAVILLE et al., 1997)
Estados Unidos (Michigan)	1121	56,00	WB	-	(ROSSANO et al., 2001)
Colômbia	76	65,70	ELISA	1:100	(CALDERÓN et al., 2014)
Espanha	138	82,60	WB	-	(ARIAS et al., 2012)
Estados Unidos	798	89,20	WB	-	(BENTZ et al., 2003)

RIFI= Reação de imunofluorescência indireta; ELISA= Teste imunoenzimático; WB= Western blot.

No Brasil, os registros da exposição dos equinos ao protozoário são escassos. Observa-se no quadro 4 a distribuição da soroprevalência de *S. neurona* em equídeos no Brasil.

Quadro 4. Soroprevalência de *Sarcocystis neurona* em equídeos no Brasil

Localidade	N	% de positivos	Técnica	Ponto de Corte	Autores
AL	427	1,60	Immunoblot	-	(VALENÇA et al., 2019)
AL, PB, PE, PI e RN.	333	2,80	RIFI	1:80	(GENNARI et al., 2016)
RJ	375	3,00	RIFI	1:50	(STELMANN, 2014)
MG	506	8,27	RIFI	-	(RIBEIRO et al., 2016)
RS	181	26,00	RIFI	1:80	(PIVOTO et al., 2014)
RS	152	33,70	ELISA	1:100	(ANTONELLO et al., 2015)
SP	101	33,86	RIFI	1:50	(DUBEY et al., 1999)
RS	61	36,00	Immunoblot	-	(LIS et al., 2012)
RS	970	37,70	WB	-	(LIS et al., 2008)
Diversas regiões	961	39,00	WB	-	(HOANE et al., 2006)
		69,60	ELISA	1:100	

RIFI= Reação de imunofluorescência indireta; ELISA= Teste imunoenzimático;

WB= Western blot.

Os principais fatores de risco associados com o aparecimento da MEP estão relacionados com a proximidade geográfica das áreas de ocorrência do hospedeiro definitivo, favorecendo que o mesmo acesse as áreas dos equinos, ficando acessível água e depósitos de alimentos (REED & BAYLY, 2000; SAVILLE et al., 2000).

A enfermidade acomete com maior frequência equinos a partir de quatro anos de idade, sendo que já foi descrita em potros jovens a partir de 2 meses e cavalos idosos até 19 anos (REGO, 2000; RIET-CORREA et al., 2001; RADOSTITS et al., 2002; TEIXEIRA et al., 2017).

Animas que passam por um período de estresse recente, como transporte realizado de forma abrupta, treinamento intenso para atividades esportivas, participação em corridas sem o preparatório físico adequado, fêmeas no pós-parto, são todas as situações que proporcionam vulnerabilidade aos equinos e os predispõem a infecção (REGO, 2000; SAVILLE et al., 2000).

A finalidade da criação dos animais pode influenciar no risco de o animal se infectar e manifestar os sinais clínicos da doença. Animais que participam de provas de corrida são mais propensos à MPE do que animais destinados ao lazer, por estes passarem por situações de estresse constantemente, através da exaustão por treinamentos físicos e pela maior interação com outros animais. O mesmo ocorre com animais de raça, que tendem a participar mais de eventos, aumentando o trânsito e a interação (SAVILLE et al., 1997; PUSTERLA et al., 2014a; DUBEY et al., 2015).

Fatores ambientais podem influenciar na predisposição à MPE, como aqueles relativos à localização, clima, hidrografia e relevo. Compreende desta forma que os equinos que compartilham área de pastejo ou áreas construídas com proximidade de mata ou floresta estão mais predispostos a compartilharem o mesmo ambiente com o *Didelphis* spp. As condições climáticas assim como as características geográficas da região interferem diretamente na disponibilidade e na sazonalidade dos alimentos e segregação de nichos ecológicos, aumentando a possibilidade de deslocamento do hospedeiro definitivo aos ambientes rurais ou urbanos (SAVILLE et al., 2000; ROSSANO et al., 2001; MORLEY et al., 2008; PUSTERLA et al., 2014a).

3.3. Brucelose equina

3.3.1. Etiologia

As bactérias do gênero *Brucella* são parasitas intracelulares facultativos, com morfologia de cocobacilos Gram-negativos não capsulados, sem capacidade de locomoção e de formar esporos (NIELSEN et al., 2004).

Classicamente *Brucella* pode ser dividida em dois grupos antigenicamente distintos, denominadas lisas e rugosas. Essa diferenciação ocorre com base nas características de multiplicação em meios de cultura no primo-isolamento e na composição bioquímica do lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular, que para algumas espécies tem relação com a virulência (NIELSEN et al., 2001; CARDOSO et al., 2006).

Atualmente o gênero *Brucella* possui dez espécies reconhecidas, sendo estas: *Brucella abortus*, *Brucella canis*, *Brucella ceti*, *Brucella inopinata*, *Brucella melitensis*, *Brucella microti*, *Brucella neotomae*, *Brucella ovis*, *Brucella pinnipedialis* e *Brucella suis* (GODFROID et al., 2011).

Nos equinos a infecção ocorre naturalmente com maior frequência por *Brucella abortus* e em seguida por *Brucella suis* (COOK & KINGSTON, 1988; LUCERO et al., 2008; CVETNIC et al., 2012) e experimentalmente *B. melitensis* (MATHIAS; COSTA, 2007).

Assume-se que as espécies de *Brucella* possuem vários biótipos (biovares), que demonstram diferenças quanto à predileção de espécies e/ou órgãos-alvo (NIELSEN, 1990). Considera-se que *B. abortus* possua sete biótipos e *B. suis* possua cinco biótipos. Em cavalos, *B. abortus* biovares 1, 2 e 4 foi isolada nos Estados Unidos, e o biovar 1 no Brasil, Colômbia e Austrália (CRAWFORD et al., 2000). Na Croácia realizou-se o isolamento de *B. suis* biovar 3 em equinos (CVETNIC et al., 2005).

Os microrganismos do gênero *Brucella* permanecem por longos períodos em ambientes como solo, água, pastagens e fezes, sendo resistentes a inativação em condições ambientais adversas como alta temperaturas, incidência solar e umidade (NIELSEN, 1995; GONZALEZ et al., 2006).

Apesar da resistência as condições ambientais a *Brucella* se torna inativa com 15 minutos de exposição aos desinfetantes clorados (2,5% de cloro ativo), soluções de formaldeído (2%) e compostos fenólicos (2,5%). O Álcool 70% destrói prontamente a bactéria (PAULIN, 2003; CASTRO et al., 2005).

3.3.2. Epidemiologia

Os estudos sobre a brucelose nos equinos são pouco abrangentes e escassos impossibilitando o completo entendimento do impacto da doença. O fato de muitos autores utilizarem diferentes métodos sorológicos de diagnóstico dificulta a comparação da prevalência da infecção por *Brucella* spp. em equinos entre Regiões, estados e Países.

A brucelose equina possui distribuição mundial tendo uma prevalência, de 5,9% no Egito (REFAI et al., 2002); 2,8% na Argentina (CASTRO et al., 2005); 0,2% no México (ACOSTA-GONZÁLEZ et al., 2006); 9,5% na Turquia (GOZ et al., 2007); 17,7% no Paquistão (WADOOD et al., 2009); 2,5% no Irã (TAHAMTAM et al., 2010); 14,7% no norte da Nigéria (EHIZIBOLO et al., 2011) e 13,7% em duas provinciais da Turquia (TEL et al., 2011).

O isolamento de *B. abortus* e *B. suis* em éguas e jumentas a partir de lesões supurativas, descargas vaginais e material de aborto, foram observadas em vários países como Inglaterra (CROSSOMAN & BONSON, 1968; HINTON et al., 1977), Austrália (CARRIGAN et al., 1987; COOK & KINGSTON, 1988), Escócia (ROBERTSO et al., 1973), Nigéria (OCHOLI et al., 2004), Argentina, Venezuela e Cuba (LUCERO et al., 2008), Brasil (LANGENEGGER & SZECHY, 1961; PORTUGAL et al., 1971; ROXO et al., 1996; RIBEIRO et al., 2003; FERNANDES et al., 2014) e Croácia (CVETNIC et al., 2005).

No Brasil, a prevalência de *Brucella* spp. em equinos foi de 0,8% em São Paulo (LANGONI & SILVA, 1997); 2,0% região Sul e Sudeste (ALMEIDA et al., 2007); 3,7% no Estado de Rondônia (AGUIAR et al., 2008); 0,6% na Paraíba (ARRUDA et al., 2012); 0,81% no Estado do Paraná (ANTUNES et al., 2013); 1,76% Estado do Rio Grande do Norte (DORNELES et al., 2013); 1,37 % em Minas Gerais (JUNQUEIRA et al., 2015) e 0,96% na Baixada Maranhense (CHAVES et al., 2015).

Langoni e Silva (1997) em estudo realizado em São Paulo, avaliaram soros de 734 equinos pela soroaglutinação rápida e prova lenta em tubos, identificaram 0,82% reagentes, não encontrando associação entre sexo, raça e idade com a predisposição a brucelose na espécie equina.

Alguns autores relacionam a coabitação de equinos com outras espécies como fator de risco para transmissão, uma vez que normalmente os equinos se infectam devido ao contato com bovinos, bubalinos infectados por *Brucella abortus* ou suínos infectados por *Brucella suis* (RIBEIRO et al., 2003; THOMASSIAN, 2005; RIBEIRO et al., 2008).

Em estudo realizado por Silva et al. (2001), com 52 equinos portadores de bursite de cernelha ou nugal, foi verificado 73,1% de casos positivos para *Brucella*. Ao avaliar as propriedades rurais onde viviam verificou-se que havia a prática da criação simultânea entre equinos e bovinos. Foi observado 53,7% das propriedades diagnosticadas positivas também para a brucelose em bovinos, corroborando como fator de risco para infecção dos equinos.

Cohen et al. (1992) observaram casos de bursite de cernelha em nove equinos soropositivos para brucelose que pastoreavam consorciados com a espécie bovina. Ocholi et al. (2004) relataram evidência sorológica de infecção por *B. abortus* em quatro equinos pastando no mesmo piquete que bovinos positivos para brucelose.

3.3.3. Transmissão

Apesar do mecanismo de transmissão da brucelose equina não estar bem esclarecido, considera-se que a infecção seja favorecida pela coabitação com outras espécies domésticas. Normalmente os equinos se infectam devido ao contato com bovinos ou suínos infectados, através de abrasões e feridas, ingestão de água e alimentos contaminados pelo microrganismo proveniente de descargas vaginais, lóquios de abortos e restos placentários de fêmeas infectadas (LANGENEGGER & SZECHY, 1961; DENNY, 1973; CASTRO et al., 2005; THOMASSIAN, 2005; MATHIAS; COSTA, 2007).

Amaral e Silva (2010) e Brazil et al. (2008) relataram dois casos de brucelose em equinos criados juntos com rebanho bovino brucélico. Ocholi et al.

(2004) relataram evidência sorológica de infecção por *B. abortus* em quatro equinos pastando no mesmo piquete que bovinos positivos para brucelose.

A brucelose equina constitui uma fonte de infecção para outras espécies domésticas, inclusive para o homem, visto que o contato com os equinos brucélicos durante as atividades esportivas, lazer, trabalho favorecem a transmissão do agente e manutenção do patógeno no ambiente (RIBEIRO et al., 2003; RADOSTITS et al., 2007).

O exsudato proveniente das fistulas de cernelha, material abortivo de equinos e o sêmen são ricos em *Brucella* viáveis, e isso deve ser levado em consideração como fator de contaminação ambiental para outras espécies domésticas, assim como para a infecção humana (RIBEIRO et al., 2003; CRAWFORD, et al., 2000).

3.3.4. Patogenia

A bactéria penetra no organismo pelas mucosas oral, nasofaríngea, conjuntival ou genital ou pelo contato direto com a pele (MATHIAS; COSTA, 2007).

Após a penetração na mucosa, as bactérias são fagocitadas principalmente por macrófagos, sendo carregadas até os linfonodos regionais, onde se multiplicam e podem permanecer por semanas a meses (RADOSTITS et al., 2007; LAGE et al., 2008; NETA et al., 2009).

Após a multiplicação nos linfonodos regionais pouco se sabe sobre a distribuição da bactéria e a patogênese da doença nos equinos. MacMillan et al. (1982) realizaram um estudo em um potro com infecção experimental para investigar a distribuição da bactéria, e sugeriram que ocorra tal como os ruminantes.

Após a multiplicação inicial, ganham a corrente sanguínea preferencialmente no interior dos fagócitos (macrófagos) ou livres no plasma (ACHA & SZYFRES, 2003), estabelecendo bacteremia por volta de uma a duas semanas (SANTANTELLANO et al., 2004). Em seguida, via linfo-hematógena, difundem-se para todo o organismo animal, localizando-se principalmente no

sistema mononuclear fagocitário, como baço, fígado e linfonodos, induzindo à formação de granulomas difusos e hiperplasia linfoide (PAULIN, 2003).

Todavia, há diferenças cruciais quando se trata de infecções localizadas, visto que o gênero *Brucella* apresenta predileção por regiões distintas nas espécies domésticas (ENRIGHT, 1990).

3.3.5. Sinais Clínicos

Nos equinos os sinais clínicos de *Brucella* spp. se apresentam em três formas clínicas diferentes, a forma assintomática, generalizada e a doença localizada. A ocorrência destas diferentes formas depende da predisposição individual, da carga bacteriana e da virulência da linhagem infectante (LANGENEGGER & SZECHY, 1961).

A forma assintomática ou latente se deve a permanência do agente infeccioso em macrófagos, nos quais permanece por tempo indeterminado (LANGENEGGER & SZECHY, 1961).

Na forma generalizada, o animal infectado apresenta elevação de temperatura corporal e apatia, caracterizando a fase aguda da doença com sinais clínicos que incluem osteoartrites, tenosinovites, infertilidade em machos e abortamentos em éguas o que é menos frequente (MCCAUGHEY; KERR, 1967; DENNY, 1973).

A manifestação da doença sob a forma localizada pode originar-se de infecções latentes ou de generalizada. Caracteriza-se por reações inflamatórias serofibrinosas, muitas vezes, purulentas, que acometem bainhas tendinosas, sinoviais articulares e bursas, principalmente, nas regiões da cernelha e nuca (LANGENEGGER & SZECHY, 1961; DENNY, 1972; COHEN et al., 1992; RIBEIRO et al., 2008).

Nos equinos a brucelose é popularmente conhecida como “mal das cruces”, “mal da cernelha” ou “mal do garrote” em virtude do principal sinal da doença nos solípedes ser a infecção na bursa supraespinhal ou na bursa supraatlantal, com formação de abscessos e possível fistulação, caracterizando um processo exsudativo (LANGENEGGER & SZECHY, 1961).

Geralmente a infecção secundária pode ocorrer atrelada a ruptura da bolsa ou sua punção (FRASER, 1996). Após vários dias ou semanas a bursa se rompe, originando uma fístula cutânea que drena um exsudato seroso ou purulento. Caso não seja tratada, pode ocorrer cicatrização aparente, fibrose e nova fistulação (ZICKER, 2006).

Foi relatado casos de equinos com bursite de cernelha associado a positividade para *Brucella* nas investigações sorológicas (DEEM, 1937; SILVA et al., 2001) e microbiológicas (LANGENEGGER & SZECHY, 1961). Silva et al. (2006) relataram um caso de brucelose em equino portador de bursite fistulosa de cernelha. Caldas e Ribeiro, (1958) descreveram dois casos de brucelose equina caracterizados pela presença de bursite cervical.

Brucella abortus pode ser uma causa para a uveíte recorrente equina (URE) (THOMASSIAN, 2005; DZIEZYC; MILLICHAMP, 2006), ocorrendo agravamento progressivo do processo inflamatório uveal, aumentando a ocorrência de sequelas responsáveis pelo comprometimento da visão, podendo haver o desenvolvimento secundário de glaucoma (THOMASSIAN, 2005).

3.3.6. Aspecto Zoonótico

Pouca atenção tem sido dada a epidemiologia da brucelose nos equinos devido a esta não ocasionar perdas econômicas que geram impactos significativos no agronegócio da equídeocultura quando comparado ao setor produtivo da bovinocultura.

Porém a brucelose em equinos merece preocupação em virtude das lesões debilitantes, pela indicação de sacrifício dos animais acometidos, ou como fonte de infecção para outras espécies domésticas e até mesmo para os humanos (RADOSTITS et al., 2000).

O contato com secreções das fistulas ou abscessos são fontes de infecção para seres humanos e o fato do equino permanecer longos períodos nas propriedades, o torna potencial reservatório, podendo ainda introduzir a doença em propriedades ou áreas livres (CRAWFORD et al., 1990, CORBEL et al., 2006).

A brucelose é uma zoonose que apresenta um forte componente de caráter ocupacional abrangendo profissionais que estão diretamente no campo e profissionais que possuem suas atividades associadas aos equinos, sendo que estes em contato íntimo com os animais positivos para *Brucella* spp. estão propensos a infecção (BRASIL, 2006).

3.3.7. Diagnóstico

A evidência de infecção por *Brucella* spp. em equinos deve ser baseada em achados epidemiológicos, sinais clínicos, pesquisa da resposta imunológica à infecção (diagnóstico indireto), isolamento e identificação da bactéria (diagnóstico direto) (DENNY et al., 1973; THOMASSIAN et al., 2005).

Diferentes procedimentos têm sido utilizados no diagnóstico da brucelose em equinos, embora o diagnóstico definitivo seja fundamentado no isolamento de bactérias do gênero *Brucella* a partir de material biológico procedente de lesões articulares e/ou em ligamentos (ZICKER, 2006).

Aspirado percutâneo e cultura microbiológica da secreção da bursa antes de seu rompimento são procedimentos que auxiliam no diagnóstico de *Brucella* spp. e no isolamento de *B. abortus* e *B. suis* (FRASER, 1996). Porém o risco que esse método apresenta ao técnico de laboratório que manipula o material é alto e se faz necessário ter laboratório com nível de biossegurança 3, o qual é exigido para trabalhar com agentes que possuem capacidade de transmissão por via respiratória e causam doenças potencialmente letais em seres humanos e animais (CDC, 2013).

Em decorrência da maior praticidade e menor exposição, custo e tempo para a obtenção do diagnóstico de *Brucella* spp. em equinos, a pesquisa de anticorpos é o procedimento de escolha para a rotina do diagnóstico de brucelose equina (MATHIAS; COSTA, 2007).

Apesar da disponibilidade de vários testes sorológicos, não existe uma padronização quanto o teste de diagnóstico a ser implementado para a brucelose em equinos. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, através do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), visa orientar quanto aos procedimentos a serem adotados no que se

refere a defesa sanitária animal para as respectivas doenças, com o foco em bovinos e bubalinos, porém não apresenta detalhamento sobre os métodos diagnósticos na brucelose para outros animais de produção (equinos, suínos, caprinos, ovinos). Ribeiro et al. (2008) recomenda a inclusão de estratégias de vigilância e controle para brucelose presentes (PNCEBT) para outros animais incluindo os equinos.

Para diagnóstico sorológico da Brucelose equina usando como base o (PNCEBT) realiza-se verificação da presença de anticorpos pelo teste de triagem o Antígeno Acidificado Tamponado (ATT) e os testes confirmatórios o 2-Mercaptoetanol (2-ME) associado à Soroaglutinação Lenta em tubos (SAT).

O teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) é uma prova sensível e de fácil execução. O pH do antígeno tamponado de 3,65 reduz reações de aglutinação por IgM e, em contrapartida, favorece reações com IgG1. Atualmente a técnica é utilizada no Brasil como teste de triagem para bovinos segundo recomendações do PNCEBT (BRASIL, 2005).

Na Soroaglutinação Lenta em tubos (SAT), o pH próximo à neutralidade, permite a detecção de imunoglobulina (Ig) da classe M, que pode levar a resultados falso positivos em decorrência de reações cruzadas com antígenos de outras bactérias (BRASIL, 2005). No entanto, foi a técnica mais utilizada por décadas nos estudos de brucelose em equinos em vários países.

Huddleson, (1943) inferiu que o título de 1:100 poderia ser empregado como ponto de corte, inclusive em animais que não apresentassem lesões ou sintomas da brucelose. Este é o ponto de corte mais utilizado na literatura (HUDDLESTON, 1943; CALDAS & RIBEIRO, 1958; LANGENEGGER & SZECHY, 1961; OLIVEIRA et al., 1973; GODOY & BARG, 1976; NICOLETTI et al., 1982; LANGONI & SILVA, 1997; JUNQUEIRA Jr., 2012).

Com intuito de melhorar os resultados da SAT, uma importante modificação foi realizada com a adição de agente redutor de pontes dissulfeto, o 2-mercaptoetanol, que quebra a estrutura pentamérica da IgM em uma estrutura monomérica, diminuindo sua capacidade aglutinante (NIELSEN, 2002). Esta alteração reduz os resultados falso positivos provenientes de reações por IgM, priorizando reações de IgG1.

Resultados do estudo desenvolvido por MacMillan et al. (1982) com equinos infectados experimentalmente sugerem que o 2-ME detecta imunoglobulinas precocemente e que os títulos encontrados na prova tendem a aumentar com o desenvolvimento da infecção. Aguiar et al. (2008), Carrazza et al. (2009) e Araujo et al. (2009) utilizaram como ponto de corte o título de 1: 25 no teste 2-ME e constatou que a técnica pode se apresentar de grande valia para estudos soroepidemiológicos da brucelose equina.

A Fixação de Complemento é uma técnica altamente específica que identifica anticorpos fixadores de complemento da classe IgG, amplamente utilizada em vários países para o diagnóstico e para o trânsito internacional de animais em importação e exportação (BRASIL, 2006). Este teste sorológico adicional pode ser útil no diagnóstico da doença crônica no cavalo (DENNY, 1973). Porém a limitação no uso desta técnica esta relacionada a sua complexidade, exigindo pessoal treinado e laboratórios bem equipados (DAJER et al., 1999).

4. ARTIGO CIENTÍFICO I

DETECÇÃO SOROLÓGICA DE Herpesvírus equino (EHV-1 /EHV-4) EM CAVALOS DA MICRORREGIÃO DE ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA- BRASIL

DETECÇÃO SOROLÓGICA DE Herpesvírus equino (EHV-1 /EHV-4) EM CAVALOS DA MICRORREGIÃO DE ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL

Samantha G. Pellizzoni ¹, Sônia C.L. Costa ², Raissa B.G. Mery ³, Anna Gabriella G. Oliveira ⁴, Erica A. Costa ⁴, Alexandre D. Munhoz ¹, Anaiá P. Sevá¹ e George R. Albuquerque ^{1*}

ABSTRACT.- Pellizzoni S.G., Costa S.C. L., Mery R.B.G., Oliveira A.G.G., Costa E. A., Munhoz. A.D., Sevá A. P. & Albuquerque G.R. 2020. [Serological Detection of Equine Herpesvirus (EHV-1 / EHV-4) in the mesoregion of Sul Baiano, Bahia- Brazil] Detecção Sorológica de Herpesvírus equino (EHV-1/EHV-4) na mesorregião do Sul Baiano, Bahia- Brasil. Laboratório de Parasitologia veterinária, Universidade Estadual de Santa Cruz, Campus Soane Nazaré de Andrade, Rodovia Jorge Amado, km 16, Bairro Salobrinho, Ilhéus, BA 45662900, Brasil. E-mail: gralbu@uesc.br

The objective of the present study was to determine the seroprevalence of infection by equine herpesvirus (EHV-1 / EHV-4) in horses from the Ilhéus-Itabuna micro-region of the state of Bahia and to evaluate possible factors associated with this infection. Serological samples were collected from 624 horses not vaccinated against equine herpesvirus (EHV), from 56 rural properties located in 12 municipalities in this region. The micro-plate seroneutralization technique was used, being positive animals with titration from the lowest dilution (Titration \geq 4) capable of inhibiting 100% of the cytopathic effect (ECP). A prevalence of 36.22% (95% CI = 32.44 - 40.13) of equine seropositive horses for EHV-1 / EHV-4 was observed, with titration of 1: 4 (105), 1: 8 (52), 1:16 (32), 1:32 (20), 1:64 (9), 1: 128 (8). Horses with breeding purposes 42.7%, sports 43.7% (OR > 1, P <0.01), trade 30.4% (P <0.01) and those fed with hay 57.2 % (OR > 1, P <0.05), were associated with EHV infection. All municipalities studied had seroreagent animals. Of the 56 properties analyzed, 36 had at least one seropositive horse, with a prevalence of 64.3% (95% CI = 50.36 - 76.64). Considering the positive serology in non-immunized animals, the findings demonstrate the induction of specific antibodies after natural exposure to equine herpesvirus (EHV-1 / EHV-4), indicating the circulation of these agents in the horses studied in the micro region of Ilhéus-Itabuna of the state of Bahia.

INDEXING TERMS: Abortion. Mesoregion Sul Baiano. Rinopneumonite. Seroneutralization.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar a soroprevalência da infecção por herpesvírus equino (EHV-1/EHV-4) nos cavalos provenientes da microrregião Ilhéus- Itabuna do estado da Bahia e avaliar possíveis fatores associados a esta infecção. Foram coletadas amostras sorológicas de 624 de cavalos não vacinados contra herpesvírus equino (EHV), provenientes de 56 propriedades rurais localizadas em 12 municípios desta região. Foi utilizada a técnica de soroneutralização em microplacas, sendo considerados positivos animais com titulação a partir da menor diluição (Titulação \geq 4) capaz de inibir 100% do efeito citopático (ECP). Foi observado uma prevalência de 36,22% (IC95% = 32,44 – 40,13) de equinos soropositivos para Herpesvírus equino (EHV-1/EHV-4), com titulação de 1:4 (105), 1:8 (52), 1:16 (32), 1:32 (20), 1:64 (9), 1:128 (8). Os equinos com finalidade de reprodução 42,7%, esporte 43,7% (OR>1, P<0,01), comercio 30,4% (P<0,01) e os que se alimentavam com feno 57,2% (OR>1, P<0,05), foram associados com infecção EHV. Todos os municípios estudados apresentaram animais sororreagentes. Das 56 propriedades analisadas, 36 possuíam pelo menos um equino soropositivo, com uma prevalência de 64,3% (IC95% = 50,36 – 76,64). Considerando a sorologia positiva em animais não imunizados, os achados demonstram a indução de anticorpos específicos após exposição natural aos herpesvírus equino (EHV-1/EHV-4), indicando a circulação desses agentes nos equinos estudados na microrregião de Ilhéus- Itabuna do estado da Bahia.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Aborto. Mesoregião Sul Baiano. Rinopneumonite. Soroneutralização.

*Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais -DCAA, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Rod. Jorge Amado, km 16, Bairro Salobrinho, Campus Soane Nazaré de Andrade, Ilhéus, BA, 45662-900, Brasil.

*Autor para correspondência: gralbu@uesc.br

¹Programa de pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Rod. Jorge Amado, km 16, Bairro Salobrinho, Campus Soane Nazaré de Andrade, Ilhéus, BA, 45662900, Brasil.

² Prefeitura Municipal de Itabuna, Centro de Controle de Zoonoses – CCZ, Itabuna, BA, Brasil.

³ Medica Veterinária, Autônoma, Ilhéus, BA, Brasil.

⁴ Laboratório de Pesquisa em Virologia Animal II, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Antônio Carlos 6627, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brasil.

4.1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho equídeo da América Latina e o terceiro mundial, composto por mais de 8 milhões de cabeças, movimenta cerca de R\$ 7,3 bilhões e gerando 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (BRASIL, 2016). A Região Nordeste aparece na primeira posição com 23,2% do efetivo nacional de equinos e o estado da Bahia ocupa o terceiro lugar no ranking nacional com 8,6% do plantel nacional de equinos (IBGE, 2016). Este número expressivo de animais representa a importância da equinocultura do ponto de vista social e econômico no estado da Bahia.

Patógenos capazes de causar perdas econômicas significativas aos plantéis e que possuem distribuição cosmopolita ocasionam grandes prejuízos ao setor da equinocultura. Os herpesvírus equino tipo 1 (EHV -1) e do tipo 4 (EHV- 4) possuem estas características. São vírus DNA pertencentes à família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae e gênero *Varicellovirus* (ALLEN et al., 1986; MINSON et al., 2000).

Os EHV estão presentes nas populações domésticas e selvagens, e provavelmente o sucesso do vírus como patógeno está relacionado à sua capacidade de indução de latência, assegurando assim uma disseminação eficiente dentro da população equídea e podendo sobreviver de uma geração para a próxima através de infecções latentes (SLATER, 2007; WOOD et al., 2008). A reativação geralmente está associada com o estresse, assim como por doença intercorrente, transporte, desconforto térmico e aglomeração de animais (SLATER, 2007).

A enfermidade provocada pelo EHV-1 apresenta-se como rinopneumonite, abortamento em fêmeas no terço final da gestação, mortalidade perinatal em potros e mieloencefalopatia. O EHV-4 são em sua maioria associados a doenças respiratórias, podendo ocorrer esporadicamente encefalopatias e incomumente abortos (ALLEN et al., 1986; ROMÃO, 2005; NUGENT et al., 2006).

No Brasil, o EHV encontra-se amplamente distribuídos na população equina em todo o território nacional. Diversos isolados originários de casos de doença neurológica (ROMÃO et al., 2005; LARA et al., 2008) e de abortamento ou mortalidade perinatal (REINER et al., 1972; WEIBLEN et al., 1994; CARVALHO, et al., 2000; CARVALHO et al., 2004; MORI et al., 2012) já foram estudados.

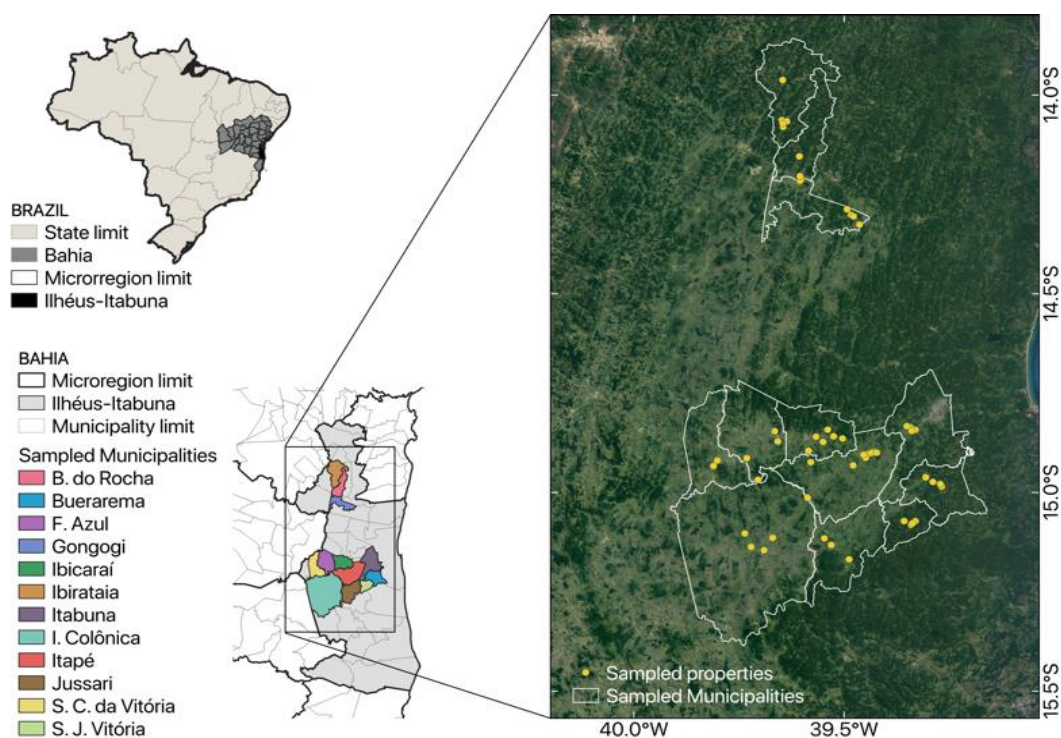
Levantamentos sorológicos realizados no Brasil verificaram uma prevalência de equinos a soropositividade EHV que variou de 4,1% (LARA et al., 2003b) a 70 % (KOTAIT et al., 1989). Embora diversos estudos epidemiológicos demonstrarem a circulação do agente no país, não foram localizados dados sobre a presença de anticorpos específicos contra EHV-1 e EHV-4 em rebanhos equinos do estado da Bahia. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo verificar a soroprevalência e os fatores associados a esta infecção nos equinos da microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. População em estudo e coleta das amostras

O estudo foi realizado no Estado da Bahia, na Mesorregião do Sul Baiano, microrregião Ilhéus- Itabuna. Foram coletadas amostras de sangue de 624 equinos, independente de sexo, raça, idade e finalidade econômica. Os equinos foram provenientes de 56 propriedades escolhidas de forma não aleatória compreendendo os municípios de Itabuna, Itapé, Itajú do Colônia, Santa Cruz da Vitória, Ibicarai, Floresta Azul, Jussari, Buerarema, São José da Vitoria, Gongogi, Barra do Rocha e Ibirataia. Todas as áreas foram georreferenciadas com o Sistema de Posicionamento Global (GPS) conforme a (Figura 1).

Figura 1. Fazendas amostradas nos Municípios da Microrregião Ilhéus e Itabuna no Estado da Bahia- Brasil.



O cálculo da amostra foi feito por município através do programa EpiInfo utilizando uma população de 11195 equinos (IBGE, 2015), com intervalo de confiança de 95%, considerando-se a frequência estimada de animais infectados como sendo de 50% e um erro de 4%.

As amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular, com sistema de colheita a vácuo em tubos silicizados com capacidade de 10 ml. As amostras foram centrifugadas, durante 10 minutos, a 900 g. O soro obtido foi separado, armazenado em eppendorf, identificados e armazenado a -20°C até a realização da sorologia.

Este projeto foi desenvolvido após aprovação pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Santa Cruz- UESC, com o Processo nº 002/2013 e nº09/2018, tendo respeitado e seguido todos os princípios éticos recomendados quanto à utilização de animais em experimentos.

4.2.2. Coleta de Informações com o uso do formulário de entrevista

Para determinar os fatores associados a prevalência de anticorpos anti- EHV, foi realizada uma entrevista estruturada (Apêndice A) com perguntas objetivas aos proprietários ou aos responsáveis pelas fazendas, contendo tópicos relacionados a principal atividade da propriedade, finalidade dos equinos, idade, sexo, interação com outros animais, manejo sanitário, nutricional e reprodutivo, informações sobre a enfermidade através da sinalização dos sinais clínicos neurológicos.

4.2.3. Sorologia

Os soros foram analisados no Laboratório de Pesquisas de Virologia Animal (LPVA) do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

A detecção de anticorpos contra o EHV foi realizada pela técnica de soroneutralização viral em culturas de células da linhagem Madin-Barby (MDBK), empregando 100 doses infectantes da solução viral do protocolo TCID50 contendo a amostra do EHV-1.

Os soros foram testados usando-se diluições na base 2, em um volume de 50 µL, frente a igual volume de 100 TCID50 de suspensão viral. Após a incubação, por 1 hora a 37°C, foram adicionados 50 µL de uma suspensão de células MDBK contendo 38.000 células/mL.

A leitura foi realizada após 72 horas de incubação a 37^o C, em estufa com 5 % de CO₂, segundo metodologia descrita por Kotait et al. (1989). A leitura final foi efetuada em 72 horas.

O título viral foi determinado pela maior diluição do soro capaz de inibir 100% do efeito citopático induzido pelo EHV nas células MDBK. O animal foi considerado positivo quando o título do soro foi maior ou igual a 4.

4.2.4. Análise Estatística

As associações entre as características dos cavalos e seu ambiente e o resultado diagnóstico foram estimadas pelo teste do qui-quadrado (χ^2) (PEARSON, 1900) e o teste exato de Fisher (FISHER, 1922). As variáveis com nível de significância de $p \leq 0,2$ foram consideradas candidatas ao modelo multivariável, incluindo todas as interações bidirecionais biologicamente plausíveis.

Utilizou-se a abordagem stepwise backwards e o modelo de melhor ajuste foi definido como aquele que incluía variáveis significativamente associadas (valor de $p < 0,05$) e minimizava o valor do Critério de Informação de Akaike (AIC).

As variações não incluídas no melhor modelo foram submetidas à análise univariada. As análises foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2017), versão 3.4.2.

4.3. RESULTADOS

Das 624 amostras de soro dos equinos analisadas, 226 (36,22%) (IC95% = 32,44 – 40,13), foram positivos para anticorpos anti- EHV, com titulação de 1:4 (105), 1:8 (52), 1:16 (32), 1:32 (20), 1:64 (9), 1:128 (8).

Das 56 propriedades estudadas, 36 possuíam pelo menos um equino soropositivo, com uma prevalência de 64,3% (IC95% = 50,36 – 76,64). Destas, 55,5% (20/36) (IC95% = 0,23 – 2,88) tem como principal finalidade econômica a equinocultura. Não houve diferença estatística significativa entre o perfil das propriedades.

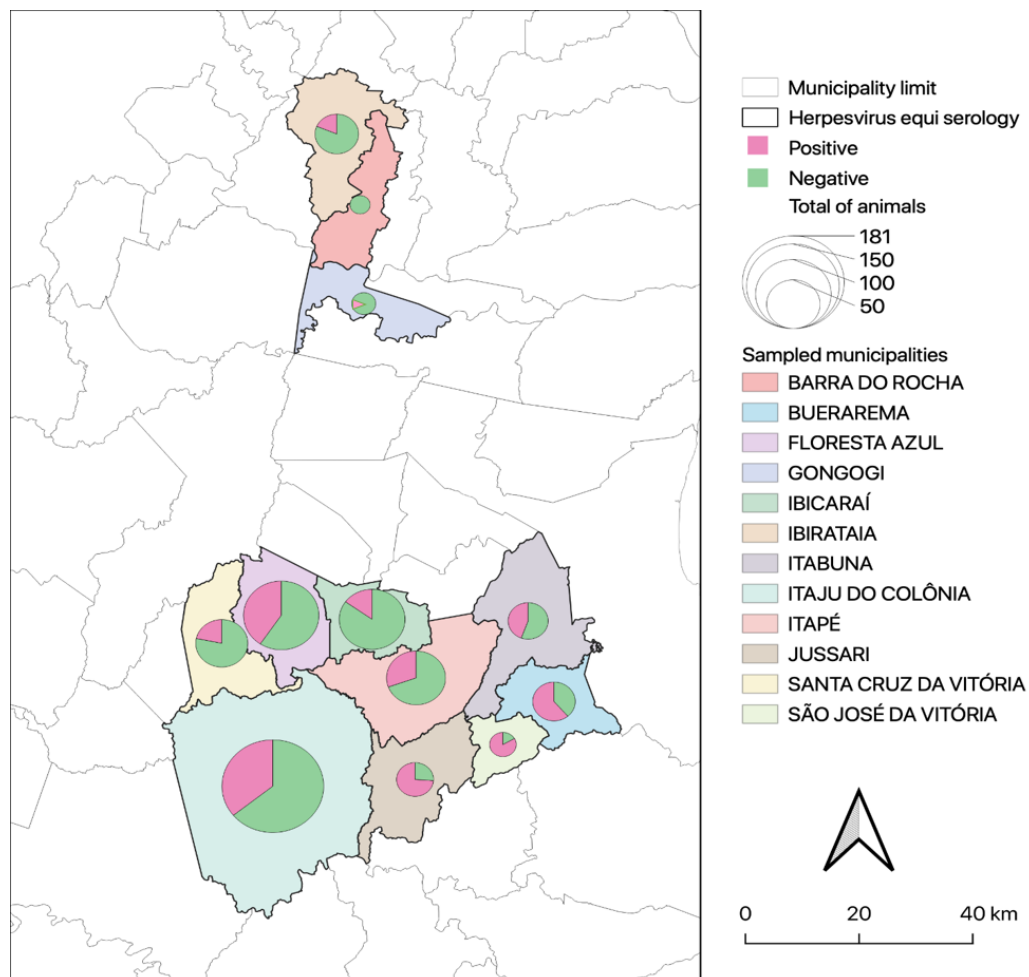
Observa-se nos municípios estudados que 91,66% (11/12) apresentaram animais sororreagentes a anticorpos anti- EHV, não havendo diferença estatística significativa entre os municípios. (Tabela 1. ; Figura 2.)

Tabela 1. Detecção e distribuição de anticorpos anti- EHV em equinos por município amostrado, na microrregião Ilhéus- Itabuna, Bahia

Municípios	Nº de animais		Prevalência (%)	%IC (95%)	Nº Total de animais
	Negativos	Positivos			
Barra do Rocha	2	0	0	0 - 84,2	2
Buerarema	24	17	41,5	30,4 - 50,9	41
Floresta Azul	58	39	40,2	30,4 - 50,6	97
Gongogi	10	9	47,4	24,4 - 71,1	19
Ibicarai	65	10	13,3	6,6 - 23,1	75
Ibirataia	19	13	40,6	23,7 - 59,4	32
Itabuna	17	11	39,3	21,5 - 59,4	28
Itajú do Colônia	128	53	29,3	22,7 - 36,5	181
Itapé	26	33	55,9	42,4 - 68,8	59
Jussari	15	11	42,3	23,3 - 63,1	26
Santa Cruz da Vitoria	27	25	48,1	34,0 - 62,4	52
São José da Vitória	7	5	41,6	15,2 - 72,3	12

*IC: Intervalo de Confiança

Figura 2. Proporção de equinos soropositivos para HVE nos municípios amostrados da Microrregião Ilhéus e Itabuna no Estado da Bahia.



Ao avaliar a correlação das variáveis com a soropositividade dos equinos para EHV-1 e EHV-4 o melhor modelo apresentou as seguintes associações significativas ($p < 0.05$) sendo os animais com a finalidade de comércio considerados fator de proteção ($p < 0.01$), de modo que 30,4% dos animais positivos foram destinados para tal. Enquanto os animais com finalidade para reprodução e esporte mostraram-se como um fator de risco ($OR > 1$, $p < 0.01$), de modo que a maioria dos positivos corresponderam a eles 42,7% e 43,7%, respectivamente. E dentro do sistema de manejo alimentar observou-se o feno como um fator de risco ($p < 0.05$ e $OR > 1$), de modo que a maioria dos equinos positivos se alimentam com feno (57,2%). (Tabela 1.)

Tabela1. Soroprevalência estratificada de herpesvírus equino EHV-1/EHV-4) em equinos amostrados da microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil e resultados da análise de regressão logística ponderada de possíveis fatores de risco para soropositividade.

Variáveis	Descrição	Positivo		Negativo		Total	Análise Multivariada		Análise Univariada	
		N	(%)	N	(%)		OR Adj (95%CI)	p value	OR Adj (95%CI)	p valor
Finalidade, Ref = SI	Comércio	14	30.4	32	69.6	46		<0.001		
	Reprodução	109	42.7	146	57.3	255	2.31 (1.1,4.7)	0.02		
	Esporte	52	43.7	67	56.3	119	2.31 (1.1-4.7)	0.001		
	Trabalho	34	30.6	77	69.4	111	1.9 (0.83-4.4)	0.129		
	SI	17	18.3	76	81.7	93				
Tipo de alimento, Ref= Volumoso e concentrado	Somente volumoso	33	25.0	99	75.0	132	0.7 (0.36-1.4)	0.229		
	Somente concentrado	0	0.0	2	100.0	2	0 (0-Inf)	0.981		
	Volumoso e concentrado	169	39.6	258	60.4	427	0.59 (0.3-1.1)	0.094		
	SI	24	38.1	39	61.9	63				
Idade, ref = Adulto	Jovem	36	27.5	95	72.5	131			0.71 (0.45,1.13)	0.148
	Adulto	90	34.7	169	65.3	259				0.011
	Senior	100	42.7	134	57.3	234			1.4 (0.97,2.02)	0.069
Feno	Sim	99	57.2	74	42.8	173	4.21	<0.001		
	Não	127	28.2	324	71.8	451	(2.71,6.55)			
Capim	Sim	202	37.6	335	62.4	537				
	Não	24	35.8	43	64.2	67			1.02 (0.6,1.73)	0.943
Gênero	Masculino	71	29.6	169	70.4	240				
	Feminino	155	40.4	229	59.6	384			1.48 (0.09,23.85)	0.022
Exposição	Sim	18	37.5	30	62.5	48			1.06	
	Não	208	36.1	368	63.9	576			(0.58,1.95)0.848	0.848
Local, Ref = Baía e Pasto	Somente baía	30	38.0	49	62.0	79			0.89 (0.46,1.71)	0.719
	Somente pasto	166	35.2	306	64.8	472			0.79 (0.47,1.31)	0.353
	Baía e pasto	29	40.8	42	59.2	71				0.768
	SI	1	50.0	1	50.0	2				

OR: chances de ocorrer (*odds ratio*); IC 95%: intervalo de confiança de 95%. Valor de *p* para o nível de significância (α) de 5% pelo teste exato de Fisher.

4.4. DISCUSSÃO

A positividade encontrada foi alta (36,22%, IC95% = 32,44 – 40,13), semelhante ao relatado por Lara et al. (2003b) com 33,4% em São Paulo e maior que os obtidos por Aguiar et al. (2008) no município de Monte Negro em Rondônia, Dias, (2000) em Belém no Pará, Lara et al. (2006) em Curitiba no Paraná e Diel et al. (2006) no Rio Grande do Sul, com 22,7%; 21,7%; 5,2% e 4,5% respectivamente, sendo utilizado a mesma técnica de diagnóstico a soroneutralização viral.

Os animais reagentes ao EHV foram detectados na maioria das fazendas, incluindo aquelas que tem como finalidade econômica a equinocultura, estando presente em 91,66% (11/12) dos municípios, o que pode acarretar grandes prejuízos econômicos dentro do cenário do agronegócio equino, impactando de forma direta e indireta em todas as atividades com fins lucrativos relacionadas ao campo equestre. Segundo informações dos proprietários, nenhum animal foi vacinado contra o agente, portanto, todas as reações são indicativas de infecção natural. É importante considerar que situações desta natureza contribuem para a disseminação viral e consequentemente o impacto epidemiológico, tendo em vista o estabelecimento de infecções latentes, onde estes

animais são capazes de eliminar o vírus em grandes concentrações após situações de estresse (OSTLUND, 1993; PATEL et al., 2005; PENA et al., 2006).

Houve uma maior frequência de amostras positivas com baixo título de anticorpos 1:4 (46,5%) e 1:8 (23,0%), isso 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 (ARARIPE et al., 2014). A elevada porcentagem de animais com baixo título de anticorpos também pode indicar a presença de anticorpos residuais, produtos de infecção primária antiga ou reativação viral (KYDD et al., 2006)

Os equinos com finalidade de reprodução (42,7%), foram estatisticamente significativos (OR>1, P<0,01) e considerados como fator de risco. Diaz et al. (2015) detectaram a presença de anticorpos específicos contra o EHV em éguas receptoras de embrião. Carvalho et al. (2000a) apontam o sêmen de garanhões persistentemente infectados como potencial transmissor do EHV-1, durante a cópula ou pela inseminação artificial. Levando 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 (ARARIPE et al., 2014).

Os equinos destinados a finalidade esportiva (43,7%), foram estatisticamente significativos (OR>1, P<0,01) e considerados como fator de risco, o que corrobora com Araripe et al. (2014) avaliando cavalos de vaquejada no estado do Ceará verificou que 41,2% foram soropositivos para EHV-1 e/ou EHV-4. De acordo com Diel et al. (2006) e Ataseven et al. (2009) equinos que participam de eventos esportivos, aumentam o risco de exposição e disseminação EHV. Este favorecimento a infecção se deve, a frequência de situações que desencadeiam estresse nesses animais, como, o transporte prolongado, os realocamentos, as aglomerações, a rotina do evento equestre e muitas vezes a ausência de implementação de quarentena na chegada dos animais e a fragilidade no atendimento do protocolo profilático com vacinação (PUSTERLA et al., 2012; MA et al., 2013).

A alimentação dos equinos com feno (57,2%) foi associada com a positividade para EHV (OR>1, P<0,05) e considerados como fator de risco. Isso pode ser explicado quanto a origem do feno. Em muitas propriedades o feno era confeccionado através do corte de capim na própria área da propriedade como também em regiões circunvizinhas e proximidades de rodovias para posteriormente desidratar e realizar o fornecimento como feno, havendo a possibilidade da contaminação do capim através de descargas nasais, materiais de aborto, fetos, anexos fetais e secreções do útero e da vagina de animais positivos para EHV, visto que a sobrevivência do herpesvirus equino no ambiente pode permanecer até 21 dias (ALLEN et al., 2004).

Os equinos destinados a finalidade de comercio (30,4%) foram estatisticamente significativo (P<0,01), sendo considerado como fator protetor. Este cenário pode estar associado ao curto tempo de permanência dos animais na propriedade, limitando o seu tempo de exposição com o agente viral.

O presente trabalho representa a primeira investigação da ocorrência de anticorpos específicos frente ao herpesvírus equino (EHV) em rebanhos equinos não vacinados na Bahia, -Brasil. Os resultados obtidos são um indicativo da exposição prévia desses animais ao EHV, demonstrando a circulação desses agentes em rebanhos equinos da região estudada e a importância desta enfermidade frente ao aspecto socioeconômico e epidemiológico na região por se tratar de uma doença controlável através de medidas profiláticas como a vacinação estratégica.

REFERÊNCIAS

Aguiar D. M., Cavalcante G. T., Lara M. C. C. S. H., Villalobos E. M. C., Cunha E. M. S., Okuda L. H., Stefano 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. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 45(4):269-276.

Allen G. P. & Bryans J. T. 1986. Molecular epizootiology, pathogenesis, and prophylaxis of equine herpesvirus-1 infectious. In: PANDEY, R. Progress in veterinary microbiology and immunology: veterinary microbiology. Basel: D. Karger, p. 78-144.

Allen G. P., Kydd J.H., Slater J.D. 2004. Equid herpesvirus 1 and equid herpesvirus 4 infection. In: Coetzer J.A.W. Infections Diseases of Livestock. 1ª ed., Capetown: Ed. Oxford University Press; 2004, p.829-859.

Araripe M. G. A., Maia D. C.B.S.C., Campelo C.C., Junior A. S., Silva M.C., Dias A.V., Medeiros C.M.O. & Pinheiro D.D.S.N. 2014. Evidências sorológicas de EHV-1 / EHV-4 em cavalos de vaquejada no estado do Ceará, Brasil. Revta Bras. Hig. Sanid. Anim. 8(2).

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 infection in equidae species in Turkey as determined by ELISA and multiplex nested PCR. *Revist. Sci. Vet.* 86 (2):339-44

Brasil. 2016. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Equídeos - MAPA. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>. Acessado em: 22/06/2016.

Carvalho R., Oliveira A. M., Souza A. M., Passos L. M. F. & Martins A. S. 2000. Prevalence of equine herpesvirus type 1 latency detected by polymerase chain reaction. *Arch. Virol.* 145 (9):1773-1787.

Carvalho R., Passos L.M.F., Oliveira A.M., Henry M. & Martins A.S. 2000 a. Detection of equine herpesvirus 1 DNA in a single embryo and in horse semen by polymerase chain reaction. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 52(4):302-306.

Carvalho R. F., Cunha E. M. S., Caron L., Domingues H. G., D'Arce R. C. F., Coswig L. T., Almeida R. S. & Arns C. W. 2004. A new Brazilian isolate of the abortogenic equine virus (equine herpesvirus type 1). *Virus Reviews Research*, v. 9, p. 79. Supplement 1. Trabalho apresentado no XVI Encontro Nacional de Virologia.

Dias H.L.T. 2000. Soroepidemiologia de cinco enfermidades infecciosas em equinos criados no estado do Pará. Belém, PA. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) - Programa de Doutorado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará. f. 147.

Diaz A. F.; Hubner S.O., Vargas G.D., Fischer G., Lilenbaum W. & Lima, M. 2015. Ocorrência de anticorpos contra o herpesvírus equino e vírus da arterite equina em rebanhos equinos do estado do Rio de Janeiro. *Ci. Anim. Bras.* 16(3):410-418.

Diel D. G., Almeida L. 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 herpesvírus em equinos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Cienc. Rural.* 36(5):1467-1473.

Fisher R. A. 1992. On the interpretation of χ^2 from contingency tables, and the calculation of P. *J. R. Stat. Soc. A. Stat.* 85(1):87-94.

Hosmer JR. D. W. & Lemeshow S. 2000. Applied logistic regression. Second Edition, New York: John Wiley & Sons, p. 375.

Ibge. 2016. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, 44:1-51.

Kotait I., Peixoto Z. M. P., Queiroz L. H., Cunha E. M. S., SOUZA M. C. A. M., Macruz R., Freitas C. A. 1989. Diagnóstico laboratorial do aborto equino a vírus através de imunofluorescência e soroneutralização. *Revta microbial.* 20 (1):128-132.

Kydd J.H., Townsend H.G. & Hannant, D. 2006. The equine immune response to equine herpesvirus-1: the virus and its vaccines. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 111:15-30.

Lara M. C. C. S. H., Cunha E. M. S., Nassar A. F. C., Gregory L., Birgel E. H. & Fernandes W. R. 2003. Occurrence of equine herpesvirus 1 (EHV-1) in horses of São Paulo, Brazil. *Ars. Vet.* 19(3):254-259.

Lara, M.C.C.S., Furman K.E., Barros Filho I.R. et al. 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. *Arch. Vet. Sci.* 11(3):11-14.

Lara M. C. C. S. H., Cunha E. M. S., Villalobos E. M. C., Nassar A. F. C., Asano K. M., Fernandes W. R., Richtzenhain L. J., Brandão P. E. & Mori E. 2008. Isolation of Equid Herpesvirus Type 1 associated with neurological disease in horses: a case report in Brazil. *Arq. Inst. Biol.* 75 (2): 221-224.

Ma G., Azab W., Osterrieder N. 2013. Equine herpesviruses type 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) - Masters of co-evolution and a constant threat to equids and beyond. *Vet. Micro.* (167):123-134.

Minson A. C., Davison A., Eberle R., Desrosiers R. C., Fleckenstein B., McGeoch D.J., Pellet P.E., Roizman B., Studdert D.M.J. Family Herpesviridae. In: Van Regenmortel M. H.V., Fauquet C.M., Bishop D. H. L., Carstens E.B., Estes M.K., Lemon S. M., Maniloff J., Mayo M.A., McGeoch D. J., Pringle C.R. & Wickner R.B. 2000. Virus taxonomy: the classification and nomenclature of viroes: the seventh report of the international committee on taxonomy of viruses, San Diego: Academic Press, p.203-225.

Mori C.M.C., Mori E., Favaro L.L et al. 2012. Equid herpesvirus type-1 exhibits neurotropism and neurovirulence in a mouse model. *J. Comp. Pathol.* 146 (2-3):202-210.

Nugent J., Burch-Machin I., Smith K. C., Mumford J. A., Swann Z., Newton J. R., Bowden R. J., Allen G. P. & Davis-Poynter N. 2006. Analysis of equid herpesvirus 1 strain variation reveals a point mutation of the DNA polymerase strongly associated with neuropathogenic versus nonneuropathogenic disease outbreaks. *J. Virol.* 80(8):4047-4060.

Ostlund EN.1993. The equine herpesviruses. *Veterinary Clinics of North America: Eq. Pract.* 9 (2): 283-294.

Patel J.R. & Heldens J. 2005. Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review. *Vet. J.* 170 (1):14-23.

Pearson K. 1900. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can reasonably be supposed to have risen from random sampling, *Philosophical Magazine*,(5):157-175.

Pena L.J., Pena D.A., Barros P.R., Dale R., Lamego M.R.A. & Moraes M.P. 2006. Levantamento soro-epidemiológico da infecção pelo vírus da Anemia Infecciosa Equina, da Influenza Equina-2 e do Herpesvirus Equino-1 em rebanhos do sul do Estado do Pará, Brasil. *Braz. J. Vet. Res. An. Sci.* 43(4)537-542.

Pusterla N., Mapes S., Wilson W.D. 2012. Prevalence of latent alphaherpesviruse in Thoroughbred racing horse. *Vet. J.* (193): 579-582.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2015.

Reed S.M & Toribio R.E. 2004. Equine herpesvirus 1 and 4. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice.* 20: 631-642.

Reiner U. R., De Lucca Neto D., Nilsson M. R., Nilsson T. T. & Kotait I. 1972. Isolamento do vírus do aborto equino em Campinas, Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 13, 1972, Brasília. Anais... Brasília: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, p. 283-284.

Romão R., Bettencourt E., Branco S., Fevereiro M. & Fialho L. 2005. Descrição de um caso de encefalopatia equina por herpes vírus 4 (EHV-4) no Alentejo. III Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias, Estação Zootécnica Nacional. Vale de Santarém, Portugal. p. 102

Slater J. Equine herpesviruses. In: Sellon, D.C., Long, M.T. 2007. *Equine infectious diseases*. Canada: Saunders; Elsevier, p.134-153.

Weiblen R., Rabuske M., Rebelatto M. C., Nobre V. M. T., Canabarr O, T. F. 1994. Abortion due to equine herpesvirus in southern Brazil. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 27:1317-1320.

5. ARTIGO CIENTÍFICO II

**SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Sarcocystis neurona* EM
EQUINOS E PESQUISA DE *Sarcocystis neurona* EM GAMBÁS NA
MICRORREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL**

**SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Sarcocystis neurona* EM
EQUINOS E PESQUISA DE *Sarcocystis neurona* EM GAMBÁS NA
MICRORREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL**

Samantha Gusmão Pellizzoni ¹; Sônia Carmen Lopo Costa²; Raissa Barros Gracie Mery ³; Jonata Melo Barbieri⁴; Alexandre Dias Munhoz¹; Anaiá da Paixão Sevá¹; George Rêgo Albuquerque^{1*}

¹ Programa de pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Santa Cruz -UESC, Ilhéus, BA, Brasil

² Prefeitura Municipal de Itabuna, Centro de Controle de Zoonoses – CCZ, Itabuna, BA, Brasil.

³ Medica Veterinária, Autônoma, Ilhéus, BA, Brasil

⁴ Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG, Brasil.

RESUMO

O presente estudo foi realizado na microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia, objetivando determinar a prevalência de anticorpos contra *Sarcocystis neurona* em equinos e identificar possíveis fatores associados a infecção, assim como, verificar a presença de esporocistos/ocistos de *S. neurona* em *Didelphis* spp. Foram coletadas amostras de 669 equinos de 56 propriedades localizadas em 12 municípios desta região. Foi utilizado a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) utilizando merozoítas da cepa de *S. neurona* 138 (SN138) com o ponto de corte 1:80. Houve uma prevalência de 7,92% de anticorpos anti- *S. neurona* nos equinos amostrados. A finalidade comércio e trabalho apresentaram-se significativas ($p < 0.05$), de modo que os equinos com finalidade para o trabalho (21,6%), apresentou-se como um fator de risco ($OR > 1$). Já os equinos com a finalidade para comércio (3,6%) foram considerados como um fator protetor. Foram capturados 25 *Didelphis* spp., para pesquisa de esporocistos/ocistos em amostras de fezes e da digestão da mucosa intestinal. Todos os *Didelphis* spp. foram negativos. Apesar da negatividade dos *Didelphis* spp. é possível afirmar que os equinos criados na mesorregião do Sul Baiano, microrregião Ilhéus- Itabuna, Bahia, foram expostos a infecção por *S. neurona* em algum momento de sua vida.

Palavras-Chave: cavalos, EPM, protozoário, sorologia.

* Correspondência para o autor: George Rêgo Albuquerque

Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais -DCAA, Universidade Estadual de Santa Cruz- UESC, Rod. Jorge Amado, km 16, Bairro Salobrinho, Campus Soane Nazaré de Andrade, CEP 45662-900, Ilhéus, BA, Brasil.

e-mail: gralbu@ues.br

5.1. INTRODUÇÃO

O Brasil dispõe de um rebanho de equinos superior a 5 milhões de animais (LIMA & CINTRA, 2016). Possui o terceiro maior rebanho mundial e o maior da América Latina (MAPA, 2014), movimentando anualmente cerca de R\$ 16,15 bilhões e gera em torno de 610 mil empregos diretos e 2.4 milhões empregos indiretos (LIMA & CINTRA, 2016). A Bahia ocupa o 3º lugar no ranking nacional com 8,6% do plantel de equinos (IBGE, 2016).

A mieloencefalite protozoária equina (MPE) é uma importante afecção neurológica, debilitante e progressiva que acomete os equinos. Tem como principal agente etiológico *Sarcocystis neurona*, protozoário do Filo Apicomplexa, Ordem Eucoccidiida e Família Sarcocystidae (DUBEY et al., 2015). O principal sinal clínico é a incoordenação motora decorrente da diminuição da propriocepção e fraqueza muscular, com sinais de atrofia muscular neurogênica e de paralisia de nervos cranianos (SMITH, 1994; DUBEY et al., 1996; THOMASSIAN, 2005; DUBEY et al., 2015).

Os hospedeiros definitivos são os marsupiais do gênero *Didelphis*, na América do Norte *Didelphis virginiana* (DUBEY & LINDSAY, 1998), e na América do Sul *D. albiventris* (DUBEY et al., 2001). No continente sul-americano existem outras espécies de gambás (*D. aurita* e *D. marsupialis*) e podem estar envolvidas com a transmissão do agente (SILVA et al., 2003). Como hospedeiros intermediários tem-se uma variedade de mamíferos, entre eles estão as jaritatacas, guaxinins, tatus, gatos e lontras marinhas (DUBEY et al., 2015).

Os equinos infectam-se acidentalmente quando ingerem água e alimentos contaminados com esporocistos eliminados nas fezes do hospedeiro definitivo. Após ingestão ocorre liberação de esporozoítos no intestino delgado e inicia-se a reprodução assexuada no endotélio vascular, onde os merozoítos migram do trato intestinal para a corrente sanguínea, ultrapassam a barreira hematoencefálica e atingem o Sistema Nervoso Central (MACKAY et al., 2001).

Os principais fatores de risco do aparecimento da MPE estão relacionados com a idade, proximidade geográfica com áreas de ocorrência do hospedeiro definitivo, fatores ambientais (clima, hidrografia, relevo), sistema de manejo alimentar, finalidade de criação dos animais e histórico de estresse recente, ou seja: transporte, treinamento

intenso, participação em corridas e pós-partos (SAVILLE et al., 2000; REED & BAYLY, 2000; DUBEY et al., 2015).

Os anticorpos contra *S. neurona* foram encontrados em equinos em diversos países com a soroprevalência variando de 0,8% na Índia (BROWN et al., 2006) a 89,20% nos Estados Unidos (BENTZ et al., 2003). No Brasil, os registros da exposição dos equinos ao protozoário são escassos, sendo que poucos estudos verificaram a soroprevalência da infecção por *S. neurona* na tropa de equinos, variando em 1,60% em Alagoas (VALENÇA et al., 2019) a 69,6% em várias regiões (HOANE et al., 2006).

Na mesorregião do Sul da Bahia, alguns casos clínicos característicos já foram diagnosticados, embora os dados não tenham sido publicados, o que tem chamado a atenção de médicos veterinários e pesquisadores da região. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a soroprevalência e os fatores associados à infecção por *S. neurona* em equinos e identificar a infecção por *S. neurona* em gambás na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Área de Estudo

O Estudo foi realizado em 56 propriedades escolhidas de forma não aleatória, localizadas na Mesorregião do Sul Baiano, microrregião Ilhéus- Itabuna, compreendendo os municípios que apresentavam maior número de propriedades com criação de equinos, tendo os respectivos percentuais de propriedades amostradas em Jussari (5,35%), Itabuna (7,14%), Itajú do Colônia (7,14%), São José da Vitória (7,14%), Gongogi (7,14%), Santa Cruz da Vitória (7,14%), Floresta Azul (7,14%), Ibirataia (8,92%), Barra do Rocha (8,92%), Buerarema (8,92%), Ibicaraí (12,5%) e Itapé (14,28%).

Todas as áreas foram georreferenciadas com o Sistema de Posicionamento Global (GPS). O mapa com a área de estudo está ilustrado na (Figura.1).

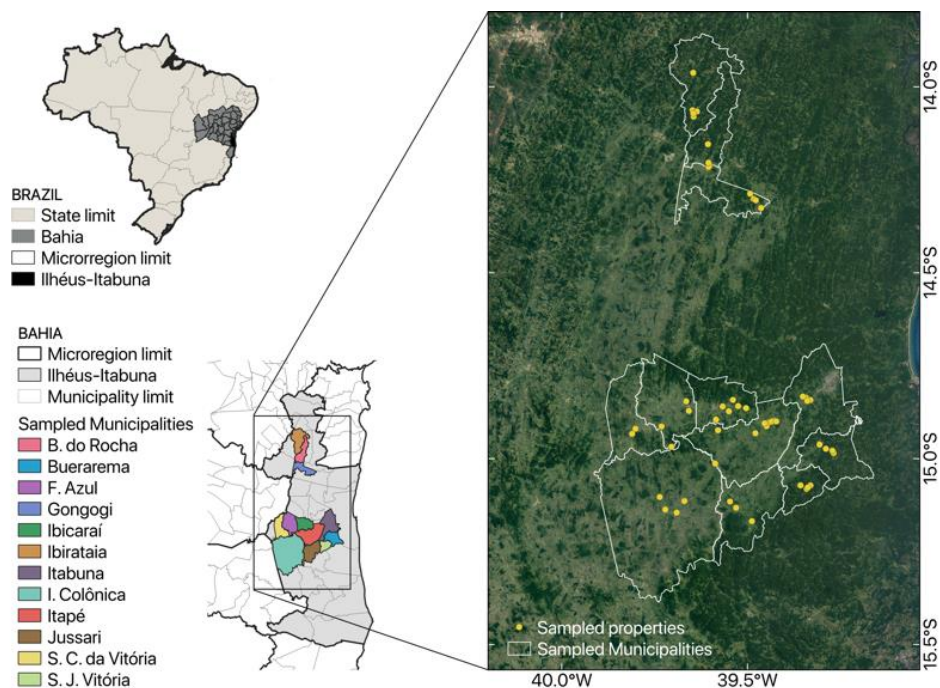


Figura.1 – Fazendas amostradas nos Municípios da Microrregião Ilhéus e Itabuna no Estado da Bahia- Brasil.

5.2.2. Coleta de Sangue dos Equinos

Foi coletado amostras de sangue de 669 equinos, independente do sexo, raça, faixa etária e finalidades. O cálculo da amostra foi feito por município através do programa EpiInfo utilizando uma população de 11195 equinos (IBGE, 2015), com intervalo de confiança de 95%, considerando-se a frequência estimada de animais infectados como sendo de 50% e um erro de 4% (Tabela 1.).

Tabela 1. Quantidade de animais coletados por município e por propriedade, na microrregião Ilhéus- Itabuna, Bahia.

Município	Nº de animais IBGE 2015	Nº fazendas amostradas	Nº animais na fazenda	Nº equinos coletados	Frequência Fazenda	Frequência Município
Barra do Rocha	102	5	20	14	70%	14%
Buerarema	410	5	74	41	55%	10%
Floresta Azul	800	4	261	100	38%	13%
Ibicarai	560	7	123	77	63%	14%
Gongogi	467	4	56	25	45%	5%
Ibirataia	104	5	44	32	73%	31%
Itabuna	958	4	30	28	93%	3%
Itaju do Colônia	3431	4	860	186	22%	5%
Itapé	2881	8	334	74	22%	3%
Jussari	541	3	36	26	72%	5%
Santa Cruz da Vitória	808	3	225	54	24%	7%
São José	133	4	13	12	92%	9%
Total	11195	56	2076	669		

O sangue foi coletado por punção da veia jugular e o soro foi separado após centrifugação 900 g por 10 minutos, acondicionado em tubos tipo eppendorf, identificados e armazenados a -20°C até a realização da sorologia.

5.2.3. Detecção de anticorpos anti- *S.neurona*

O teste de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foi realizado com merozoítas da cepa de *S.neurona* 138 (SN138), produzidos em cultivo celular. O controle positivo e negativo para *S.neurona* foi feito em cada lâmina, sendo estes materiais cedidos pelo Laboratório de Protozoários Coccídios da Universidade Federal da Bahia –UFBA. O conjugado utilizado foi o anti-IgG equino (Sigma, F7759) na diluição de 1:600.

Os soros foram considerados positivos com o ponto de corte 1:80 quando apresentaram fluorescência completa dos merozoítos de *S.neurona* (PUSTERLA et al., 2014). As amostras positivas foram submetidas a diluições sequenciais de 1:80; 1:160; 1:320; 1:640; 1:1280 até a resposta negativa.

5.2.4. Coleta de Informações com o uso do formulário de entrevista

Para determinar os fatores associados a soropositividade de *S.neurona*, foi realizada uma entrevista estruturada (Apêndice A) com perguntas objetivas aos proprietários ou aos responsáveis pelas fazendas, contendo tópicos relacionados a principal atividade da propriedade, finalidade dos equinos, idade, sexo, interação com outros animais, manejo sanitário, nutricional e reprodutivo, informações sobre a enfermidade através da sinalização dos sinais clínicos neurológicos, presença de área florestal, assim como a presença de gambás.

5.2.5. Captura dos *Didelphis* spp.

A captura dos *Didelphis* spp. foi realizada utilizando armadilhas de captura viva do modelo *Tomahawk* (50 X 17 X 17 cm), distribuídas em dois fragmentos das propriedades amostradas. Sendo o fragmento A com 3 armadilhas (área construída da propriedade) e fragmento B com 2 armadilhas (área de pastejo dos animais), totalizando 5 armadilhas por propriedade.

As armadilhas foram iscadas as 18:00h com uma mistura de fubá, banana, aveia, paçoca, óleo de fígado de bacalhau e sardinha e monitoradas diariamente por 5 dias consecutivos a partir das 06:00h para verificar a captura do *Didelphis* spp.

Os *Didelphis* spp. encontrados mortos acidentalmente nas propriedades deste estudo também foram coletados.

5.2.6. Coleta de material biológico do *Didelphis* spp.

As armadilhas com animais capturados foram acondicionadas em sacos de estopa para ser transportadas até as instalações físicas das áreas de estudo para posterior manejo e colheita de amostras.

Os *Didelphis* spp. foram eutanasiados com a administração via intraperitoneal do anestésico tiopental sódico (120mg/kg). A dose anestésica foi calculada de acordo ao peso do animal capturado.

Para cada espécie capturada foram coletadas amostras de fezes e órgãos (Intestino delgado e Intestino Grosso), sendo estas armazenadas em sacolas plásticas identificadas e acondicionadas e mantidas sob refrigeração para posterior análise.

Os animais foram registrados com fotografia, identificados quanto à espécie e sexo (BONVICINO et al., 2008). Os filhotes, fêmeas grávidas e lactantes quando capturados eram liberados no local de origem da captura.

Os procedimentos para coletas dos exemplares foram realizados seguindo os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2013), com autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) sob o número 17131- 4 e, pelo Conselho de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Santa Cruz - CEUA – UESC (Processo nº 002/2013 e nº09/2018).

5.2.7. Diagnóstico do *S. neurona* em *Didelphis* spp.

5.2.7.1. Exame de fezes dos gambás

As fezes dos gambás foram processadas utilizando a técnica de centrifugo-flutuação modificada por MENEZES (1994), para a identificação do parasita e posteriormente armazenadas em solução de bicromato de potássio a 2,5%.

5.2.7.2. Digestão da mucosa intestinal

Realizou-se a digestão dos intestinos delgado e grosso dos gambás capturados, através da raspagem de toda mucosa intestinal, sendo esta homogeneizada em água destilada com o auxílio de um mixer, e posteriormente acrescentado hipoclorito de sódio a 5% à mistura e colocado em um agitador por 30 minutos a temperatura ambiente. O material foi filtrado em gaze e feito centrifugações seriadas à 1957g por 10 minutos para retirar o hipoclorito. O sedimento foi resuspenso numa solução de “Hank’s Balanced Salt Solution” para observação em microscopia.

5.2.7.3. Microscopia de identificação

Tanto as amostras de fezes e da digestão da mucosa intestinal foram analisadas com auxílio do microscópio Olympus BX51 através do programa *Imagem-Pro Express* 6.0 para a verificação da presença dos oocistos/ esporocistos do *S. neurona*.

5.2.8. Análise Estatística

As associações entre as características dos cavalos e seu ambiente e o resultado diagnóstico foram estimadas pelo teste do qui-quadrado (χ^2) (PEARSON, 1900) e o teste exato de Fisher (FISHER, 1922). As variáveis com nível de significância de $p \leq 0,2$ foram consideradas candidatas ao modelo multivariável, incluindo todas as interações bidirecionais biologicamente plausíveis.

Utilizou-se a abordagem stepwise backwards e o modelo de melhor ajuste foi definido como aquele que incluía variáveis significativamente associadas (valor de $p < 0,05$) e minimizava o valor do Critério de Informação de Akaike (AIC).

As variações não incluídas no melhor modelo foram submetidas à análise univariada. As análises foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2017), versão 3.4.2.

5.3. RESULTADOS

Das 669 amostras de soro dos equinos analisadas, 53 (7,92%, IC 95%= 5,99 – 10,23) foram positivas para anticorpos anti- *S. neurona*, com titulação de 1:80 (94,3%), 1:160 (3,8%) e 1:320 (1,9%). Dos equinos soropositivos, 9,7% (25/259) eram machos e 6,8% (28/410) fêmeas; 7,58% (11/145) eram jovens (equinos ≤ 3 anos), 6,77% (19/283) adultos (equinos ≤ 10 anos) e 9,50% (23/242) sênior (equinos ≥ 11 anos). Não houve diferença significativa entre a variável sexo e faixa etária.

A finalidade comércio e trabalho apresentaram-se significativas ($p < 0,05$), de modo que os equinos com finalidade para o trabalho (21,6%), apresentou-se como um fator de risco (OR >1). Já os equinos com a finalidade para comércio (3,6%) foram considerados como um fator protetor. Não houve nas demais variáveis associação com a soropositividade dos equinos para *S. neurona*, conforme demonstra a tabela 2.

Tabela 2. Soroprevalência estratificada de *S. neurona* em equinos amostrados da microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil e resultados da análise de regressão logística ponderada de possíveis fatores de risco para soropositividade.

Variáveis	Descrição	Positivo		Negativo		Total	Análise Multivariada		Análise Univariada	
		N	(%)	N	(%)		OR Adj (95%CI)	p value	OR Adj (95%CI)	p value
Finalidade, Ref = Comércio	Comércio	2	3.6	53	96.4	55		<0.001		
	Reprodução	18	6.8	248	93.2	266	1.66 (0.37-7.5)	0.511		
	Esporte	8	5.8	129	94.2	137	1.19 (0.24-6)	0.833		
	Trabalho	25	21.6	91	78.4	116	5.08 (1.11-23.33)	0.037		
	SI	0	0.0	95	100.0	95				
Tipo de alimento, Ref=Vol e conc	Somente volumoso	10	7.3	127	92.7	137			0.75 (0.29,1.92)	0.548
	Somente concentrado	0	0.0	2	100.0	2			0 (0,Inf)	0.984
	Volumoso e concentrado	33	7.2	427	92.8	460				0.093
	SI	10	14.3	60	85.7	70				
Idade ref = Adulto	Jovem	11	7.6	133	92.4	144			1.22 (0.56,2.65)	0.614
	Adulto	19	6.7	264	93.3	283				0.381
	Sênior	23	9.5	219	90.5	242			1.57 (0.83,2.97)	0.167
Baia aberta	Sim	8	9.5	76	90.5	84				
	Não	45	7.7	540	92.3	585				
Capim	Sim	43	7.2	552	92.8	595				
	Não	10	13.5	64	86.5	74			0.6 (0.29,1.26)	0.197
Feno	Sim	7	3.8	179	96.2	186				
	Não	46	9.5	437	90.5	483	0.47 (0.2-1.13)	0.074		
Gênero	Masculino	28	6.8	382	93.2	410				
	Feminino	25	9.7	234	90.3	259			1.68 (0.95,2.97)	0.17
Exposição	Sim	4	7.4	50	92.6	54				
	Não	49	8.0	566	92.0	615			0.77 (0.27,2.22)	0.616
Local, Ref = Baia e Pasto	Somente baia	5	5.5	86	94.5	91			334756.56 (0,Inf)	0.988
	Somente pasto	40	8.1	451	91.9	491			645133.09 (0,Inf)	0.987
	Baia e pasto	8	9.5	76	90.5	84			614166.7 (0,Inf)	0.988
	SI	0	0.0	3	100.0	3				
Nº de animais na fazenda	1-5	38	9.0	383	91.0	421				
	15-30	10	7.0	132	93.0	142				
	20-45	3	5.2	55	94.8	58			0.75 (0.52,1.09)	0.106
	>45	2	4.2	46	95.8	48				
Sinais neurológicos	Sim	2	11.0	50	96.2	52				
	Não	51	510.0	566	91.7	617			1.82 (0.39,8.43)	0.474

Legenda: * significativo (p<0.05)

Das 56 propriedades analisadas, 10 possuem pelo menos um equino soropositivo, com uma prevalência de 17,86% (IC 95%= 8,91-30,4%). Já os municípios analisados, Gongogi apresentou a maior prevalência de equinos soropositivos (16,0%), nos

municípios de Ibirataia e Itabuna não houveram animais positivos para anticorpos anti-*S. neurona* (Figura 2; Tabela 3.). Observou-se que tanto nas propriedades quanto nos municípios amostrados não houve diferença significativa.

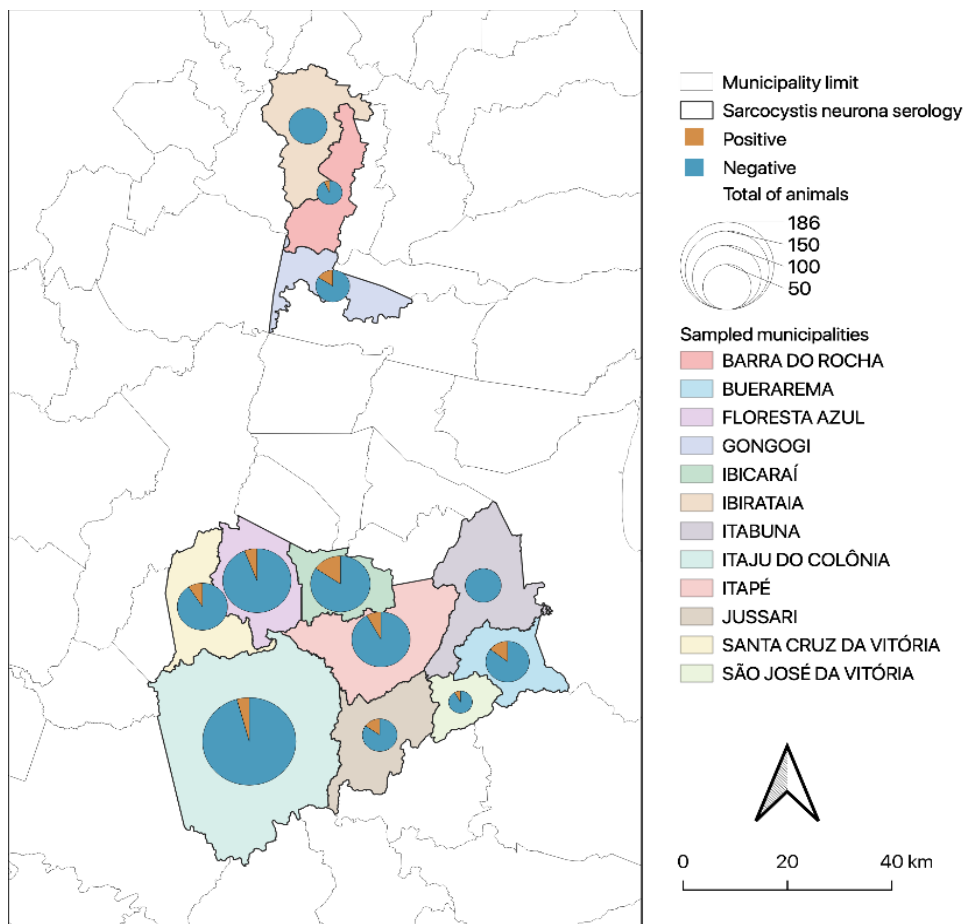


Figura 2. Proporção de equinos soropositivos para *S. neurona* nos municípios amostrados da Microrregião Ilhéus e Itabuna no Estado da Bahia.

Tabela 3. Detecção e distribuição de anticorpos anti-*S.neurona* em equinos em doze municípios da microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.

Municípios	Nº Total de animais examinados	Nº Total de animais positivos	Prevalência (%)	IC 95%
Ibirataia	32	0	0,0	-
Itabuna	28	0	0,0	-
Itajú do Colônia	186	8	4,3	2,1-8,4
Floresta Azul	100	6	6,0	2,7-1,3
Barra do Rocha	14	1	7,1	1,0-4,7
Itapé	74	6	8,1	3,7-17,4
São José da Vitória	12	1	8,3	1,2-5,4
Santa Cruz da Vitória	54	5	9,3	4,0-2,1
Buerarema	41	6	14,6	6,9-3,0
Jussari	26	4	15,4	6,2-3,7
Ibicaraí	77	12	15,6	9,2-2,6
Gongogi	25	4	16,0	6,5-3,9

Legenda: IC 95%: Intervalo de Confiança 95%

Em relação ao *Didelphis* spp., foram capturados um total de 25 animais, sendo 10 fêmeas (40%) e 15 machos (60%), pertencendo 60% (15/25) a espécie *D. aurita* e 40% (10/25) *D. albiventris*.

O êxito de captura do *Didelphis* spp. foi de 75% nos municípios, sendo: Jussari 4% (1/25); Buerarema 4% (1/25); Gongogi 4% (1/25); Ibicaraí 12% (3/25); Itabuna 12% (3/25); Santa Cruz da Vitoria 12% (3/25); Ibirataia 12% (3/25); Itapé 16% (4/25) e Floresta Azul 24% (6/25). Nas propriedades, observou-se que 92,86% (52/56) faziam divisa ou possuíam área de floresta ou mata e que 32,14% (18/56) das propriedades houve pelo menos um *Didelphis* spp. capturado.

Das 18 propriedades com êxito de captura do *Didelphis* spp., 33,33% (6/18) apresentavam equinos infectados por *S.neurona*. Porém não foi estatisticamente significativo a correlação entre a presença do *Didelphis* spp. nas propriedades que possuem divisa ou área de floresta ou mata com a captura e com os equinos positivos *S.neurona*.

Dos 25 *Didelphis* spp. capturados, todos foram negativos quanto a presença de oocistos e esporocistos nas amostras analisadas de fezes e raspagem dos intestinos delgado e grosso.

5.4. DISCUSSÃO

Dubey et al. (2015) ao realizar uma revisão de dados e uma atualização sobre as infecções por *Sarcocystis neurona* em animais e mieloencefalite por protozoário equina (EPM), verificaram que em todo o mundo, a prevalência de soropositividade para *S. neurona* em cavalos variou de 0% na Nova Zelândia (VARDELEON et al., 2001) a 89,2% nos EUA (BENTZ et al., 2003).

Neste estudo a prevalência de anticorpos anti- *S. neurona* nos equinos foi considerada baixa (7,92%), assim como à descrita por Valença et al. (2019) em Alagoas (2,8%) e quando comparada a Ribeiro et al. (2016) em Minas Gerais (26,0%) e Pusterla et al. (2014) nos Estados Unidos (27,6%). Todos os estudos supracitados utilizaram a RIFI para investigação sorológica e o mesmo ponto de corte.

A baixa prevalência encontrada nos equinos pode estar relacionada a diversos fatores intrínsecos (condição física, imunológica e histórico de estresse recente) e extrínsecos (condições ambientais e proximidade geográfica com áreas de ocorrência do hospedeiro definitivo positivo), porém o fato de os 25 *Didelphis* spp. capturados nas propriedades estarem negativos para *Sarcocystis* corrobora com este resultado. A prevalência de 100% dos *Didelphis* spp. capturados serem negativos, pode estar associado ao número restrito autorizado pelo Comitê de Ética para uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Santa Cruz-UESC para a amostragem destes indivíduos.

A região de Mata Atlântica apresenta uma grande biodiversidade alimentar, com grande quantidade de frutas e insetos e isso corrobora para a negatividade dos *Didelphis* spp. para *S. neurona*, visto que essa disponibilidade diminui a necessidade de busca do *Didelphis* spp. pelo hospedeiro intermediário.

Outro fato que corrobora com a negatividade do *Didelphis* spp. é sua presença em algum momento nas propriedades estudadas, sendo visualizados em 92,86% (52/56) das propriedades. Esse fato pode estar associado as características sinantrópicas dos *Didelphis* spp. que se adaptam facilmente ao convívio humano, colonizando habitações e seus arredores, retirando vantagens em matéria de abrigo por se adaptarem a forros das

casas, ocos de arvores, por terem acesso a alimentos (resíduo alimentar domiciliar, criações de aves, rações de animais) e disponibilidade de água (ANDRADE, 2002). Essa evidencia da migração destes animais nas propriedades pode estar correlacionada a facilidade e a oferta irrestrita de alimentos.

Didelphis spp. são onívoros, apresentam hábitos alimentares generalistas uma vez que sua dieta é composta por uma ampla gama de itens incluindo invertebrados, pequenos vertebrados, ovos, farelos, aves, frutos, carcaças e ocasionalmente carniça, flores, néctar e goma de árvores (GRIBEL, 1988, SANTORI et al., 1995, 1997; VIEIRA & ASTÚA, 2003; ALÉSSIO et al., 2005; SANTORI & ASTÚA, 2006). Sendo assim, mudanças nesta dieta leva a possibilidade de animais negativos, visto que a contaminação ocorre pela ingestão do sarcocisto presente nos tecidos muscular de hospedeiros intermediário.

De acordo com Dubey et al. (2015), a finalidade da criação dos animais pode influenciar na possibilidade de o animal se infectar. Isto corrobora com os dados encontrados pelo presente estudo. Equinos com finalidade para o trabalho (21,6%), apresentou-se como um fator de risco (OR>1 – p<0,05). Apesar de não ter sido encontrado gambás positivos no presente estudo, como utilizamos um N reduzido, outros gambás podem apresentar-se positivos para *S. neurona* e contaminarem o ambiente com as fezes contendo os esporocistos. Essa prevalência pode estar relacionada como o fato destes animais trabalharem na condução dos bovinos em sistema de pastejo e isso possibilita a exposição dos equinos aos diversos ambientes da propriedade assim como de outros ambientes, aumentando a margem de interação com pastagens contaminadas pelos esporocistos de *S. neurona*, outro fato importante é que estes animais permanecem por longos anos na propriedade, isso permite uma maior interação com o *Didelphis* spp., que predispõem à infecção por *S. neurona* (ROSSANO et al., 2001; MORLEY et al., 2008).

Já os equinos com a finalidade para comércio (3,6%) foram considerados como um fator protetor. Este fato pode estar associado ao tempo de permanência destes animais na propriedade, visto que a comercialização é rotativa por estes animais apresentarem-se características desejadas pelo mercado como a raça, cor da pelagem, idade, altura, temperamento e potencial usabilidade. Outro aspecto relevante é o manejo direcionado aos animais destinados ao comercio, na maioria das propriedades, os tratadores realizavam cuidados especiais quanto a limpeza das baias, piquetes individuais por animal e manejo alimentar direcionado.

Embora Bentz et al. (2003) e Duarte et al. (2004) tenham relatado associação entre idade e a soropositividade para *S. neurona*, o presente estudo não comprovou essa relação, corroborando resultados de Pivoto et al. (2014) e Ribeiro et al. (2016). Não houve associação entre a soropositividade dos equinos e o sexo, concordando com os achados de Blythe et al. (1997).

5.5. CONCLUSÃO

Com base nestes dados é possível afirmar que os equinos criados na mesorregião do Sul Baiano, microrregião Ilhéus- Itabuna, Bahia apresentam uma baixa prevalência de anticorpos anti- *S. neurona*.

REFERÊNCIAS

- ALÉSSIO, F.M.; MENDES PONTES, A.R. & SILVA, V.L. Feeding by *Didelphis albiventris* on tree gum in northeastern Atlantic Forest in Brazil. *Mastozool. neotrop.* 2005; 12 (1):53-56.
- ANDRADE, A., PINTO, SC., & OLIVEIRA, RS, orgs. *Animais de Laboratório: criação e experimentação.* Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ; 2002. p.388.
- BENTZ, B.G.; EALEY, K.A.; MORROW, J.; CLAYPOOL, P.L.; SALIKI, J.T. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in equids residing in Oklahoma. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003; 15(1):597-600.
- BLYTHE, L.L., GRANSTROM, D.E., HANSEN, D.E., WALKER, L.L., BARTLETT, J., STAMPER, S. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Oregon. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1997; 210:525-527.
- BONVICINO, C. R. et al. *Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos.* Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa-OPAS/OMS; 2008. p. 120.
- BROWN, C. M.; MORROW, J. K., CARLETON, C.L., RAMANATHAN, B.; REDDY, R.; VAIDYA, V., KARTHIKEYAN, S. M., ZULFIKAR, A. A., KANNADKAR, V.S.

Persistence of serum antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses moved from North America to India. *J. Vet. Intern. Med.* 2006; 20(4): 994-7.

DUARTE, P. C., DAFT, B. M., CONRAD, P. A., PACKHAM, A. E., SAVILLE, W. J., MACKAY, R. J., BARR, B. C., WILSON, W. D., NQ, T., REED, S. M. & GARDNER, I. A. Evaluation and comparison of an indirect fluorescent antibody test for detection of antibodies to *Sarcocystis neurona*, using serum and cerebrospinal fluid of naturally and experimentally infected, and vaccinated horses. *J. Parasitol.* 2004; 90: 379–386.

DUBEY, J.P., MILLER, S. Equine protozoal myeloencephalitis in a pony. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1986; 188:1311–1312.

DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. Isolation in immunodeficient mice of *Sarcocystis neurona* from opossum (*Didelphis virginiana*) faeces, and its differentiation from *Sarcocystis falcatula*. *Int. J. Parasitol.* 1998; 28:1823–1828.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SAVILLE, W.J.A.; REED, S. M.; GRANSTROM, D. E.; SPEER, C. A. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). *Vet. Parasitol.* 2001; 95 (2-4):89-131.

DUBEY, J.P., HOWE, D. K.; FURR, M.; SAVILLE, W. J.; MARSH, A. E.; REED, S. M.; GRIGG, M. E. An update on *Sarcocystis neurona* infections in animals and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). *Vet. Parasitol.* 2015; 209 (1-2):1-42.

GRIBEL, R. Visits of *Caluromys lanatus* (Didelphidae) to flowers of *Pseudobombax tomentosum* (Bombacaceae): a probable case of pollination by marsupials in central Brazil. *Biotropica* 1988; 20:344-347.

HOANE, J.S., GENNARI, S.M., DUBEY, J.P., RIBEIRO, M.G., BORGES, A.S., YAILE, L.E., AGUIAR, D.M., CAVALCANTE, G.T., BONESI, G.L., HOWE, D.K. Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. *Vet. Parasitol.* 2006; 136 (2): 155-9.

HOSMER JR., D. W.; LEMESHOW, S. Applied logistic regression. Second Edition, New York: John Wiley & Sons; 2000. p.375.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. Disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/geratabela?name=Tabela%202...%20Bahia>. Acessado em: 20 Janeiro de 2017.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro; 2016; 44 :1-51.

LIMA, R. A. S. & CINTRA, A. G. Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2016. p. 1-56.

MACKAY, R. Mieloencefalopatia Protozoária Equina. In: Allen, D. G. et al. Manual Merck de Veterinária. 8 ed. São Paulo: Editora Roca; 2001. p. 771-772.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2014. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br>. Acesso em: 18 março de 2017.

MENEZES R.C.A.A. Epidemiologia da Eimeria Arloing (MAROTEL, 1905) MARTAN, 1909 (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) na microrregião serrana fluminense, estado do Rio de Janeiro. Tese de Mestrado, UFRRJ, Seropédica, RJ; 1994. p.57.

MORLEY, P. S.; TRAUB-DARGATZ, J. L.; BENEDICT, K. M.; SAVILLE, W. J. A.; VOELKER, L. D.; WAGNER, B. A. Risk factors for owner-reported occurrence of equine protozoal myeloencephalitis in the US equine population. J. Vet. Intern. Med. 2008; 22 (3): 616-629.

PIVOTO, F.L., de Macêdo Junior, A.G., da Silva, M.V., Ferreira, F.B., Silva,D.A.O., Pompermayer, E., Sangioni, L.A., Mineo, T.W.P., Vogel, F.S.F. Serological status of mares in parturition and the levels of anti-bodies (IgG) against protozoan family Sarcocystidae from their precolostral foals. Vet. Parasitol.2014; 199:107–111.

PUSTERLA, N., TAMEZ-TREVINO, E., WHITE, A., VAN GEEM, J., PACKHAM, A., CONRAD, P.A., KASS, P. Comparison of prevalence factors in horses with and without seropositivity to *Neospora hughesi* and/or *Sarcocystis neurona*. Vet. J.2014; 200 (2): 332-334.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing.R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL<https://www.R-project.org/>. 2015.

REED, M.; BAYLY, M.: Medicina Interna Equina, 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 419.

RIBEIRO J.M.M.; ROSA F.H.M.; BRUHN P.R.F.; GARCIA M.A.; ROCHA M.B.M.C.C.; GUIMARÃES M.A. Seroepidemiology of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. among horses in the south of the state of Minas Gerais, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2016; 25:2.

ROSSANO, M.G., KANEENE, J.B., MARTENIUK, J.V., BANKS, B.D., SCHOTT II, H.C., MANSFIELD, L.S. The seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in Michigan equids. Prev. Vet. Med. 2001; 48:113-128.

SANTORI, R.T.; DE MORAES, D.A. & CERQUEIRA, R. Diet composition of *Metachirus nudicaudatus* and *Didelphis aurita* (Marsupialia, Didelphoidea) in southeastern Brazil. Mammalia 1995; 59:11-516.

SANTORI, R.T.; DEMORAES, D.A.; GRELLE, C.E.V. & CERQUEIRA, R. Natural diet at a Restinga forest and laboratory food preferences of the opossum *Philander frenata* in Brazil. Stud. Neotrop. Fauna Environ. 1997; 32:12-16.

SANTORI, R.T. & ASTÚA DE MORAES, D. Alimentação, nutrição e adaptações alimentares de marsupiais brasileiros. Pp. 241-254. In: Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução. E.L.A. MONTEIRO-FILHO & N.T. CÁCERES (eds.). Editora UFMS, Campo Grande, Brazil. 2006.

SAVILLE, W. J., S. M. REED, AND P. MORELY. Analysis of risk factors for the development of equine protozoal myeloencephalitis in horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2000; 217:1174–1180.

SILVA, D. P. et al. Mieloencefalite protozoária equina: revisão de literatura. Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária, Brasília 2003; 9(28/29): 34-40.

SMITH, B.P. Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais. 2 vol. Ed..Manole, São Paulo; 1994. p.1738.

THOMASSIAN, A. Enfermidades dos cavalos. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela. p.573, 2005.

VALENÇA, S. R. F. A.; RIBEIRO-ANDRADE, M.; MORÉ, G.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; JÚNIOR, J.W.P.; MOTA, R. A. Low prevalence of infection by *Sarcocystis neurona* in horses from the State of Alagoas, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2019; 28 (2): 298-302.

VARDELEON, D.; MARSH, A. E.; THORNE, J. G.; LOCH, W.; YOUNG, R.; JOHNSON, P. J. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. *Vet. Parasitology* 2001; 95 (2/4) :273-78.

VIEIRA, E.M. & ASTÚA DE MORAES, D. 2003. Carnivory and insectivory in neotropical marsupials. Pp. 271-284. In: M. JONES; C. DICKMAN & M. ARCHERS (eds). *Predators with pouches: the biology of carnivorous marsupials*. Collingwood, CSIRO Publishing. ALÉSSIO, et al., 2005.

6. ARTIGO CIENTÍFICO III

SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE EQUINA EM CAVALOS DA MICRORREGIÃO DE ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL

Modelo do artigo conforme Anexo F

SOROPREVALÊNCIA DA BRUCELOSE EQUINA EM CAVALOS DA MICRORREGIÃO DE ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL

Samantha G. Pellizzoni¹, Sônia C.L. Costa², Raissa B.G. Mery³, Jonata M. Barbieri⁴, Dionei J. Haas⁴, Andrey P. Lage⁴, Alexandre Dias Munhoz¹ e George R. Albuquerque^{1*}

ABSTRACT.- Pellizzoni S.G., Costa S.C. L., Mery R.B.G., Barbieri J. M., Haas D.J., Lage A.P., Munhoz A.D & Albuquerque G.R. 2020. [Seroprevalence of equine brucellosis in the Mesoregion of Baiano, Bahia-Brazil] Soroprevalência da brucelose equina na Mesoregião do Sul Baiano, Bahia-Brasil. Laboratório de Parasitologia veterinária, Universidade Estadual de Santa Cruz, Campus Soane Nazaré de Andrade, Rodovia Jorge Amado, km 16, Bairro Salobrinho, Ilhéus, BA 45662900, Brasil. E-mail: gralbu@uesc.br

The present study aimed to determine the seroprevalence of *Brucella* spp. in horses from the Ilhéus-Itabuna microregion of the state of Bahia and to evaluate possible factors associated with this infection. Serological samples were collected from 666 horses from 56 rural properties located in 12 municipalities in this region. For the analyzes, the official tests present in the National Program for the Control and Eradication of Brucellosis and Animal Tuberculosis (PNCEBT) were used, using the buffered acidified antigen (AAT) test as a screening and the slow serum agglutination test as confirmation. Tubes (SAT) 1: 100 cutoff point associated with the 2-Mercaptoethanol (2ME) reduction test in titrations (1:25, 1:50, 1: 100, 1: 200). The prevalence of antibodies against *Brucella* spp. found in horses was 0.15% (1 animal) with (95% CI = 0-0.83) in the titration 1: 100 (SAT) and 1:50 (2ME). The analysis of the variables raised (sex, age, management system, economic purpose and interaction with other animals) as possible factors associated with infection by *Brucella* spp. did not reveal the existence of an association between these and seropositivity. Infection with *Brucella* spp. present in a single horse indicates the first seroepidemiological survey of *Brucella* spp. in the Ilhéus-Itabuna microregion of the state of Bahia.

INDEXING TERMS: Antibodies, acidified buffered antigen, Bahia, *Brucella* spp., Epidemiology, equine, slow agglutination in tubes and 2 mercaptaethanol.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar a soroprevalência de *Brucella* spp. em equinos provenientes da microrregião Ilhéus- Itabuna do estado da Bahia e avaliar possíveis fatores associados a esta infecção. Foram coletadas amostras sorológicas de 666 equinos de 56 propriedades rurais localizadas em 12 municípios desta região. Para as análises foram utilizados os testes oficiais presentes no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT), empregando-se, como triagem o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) e como confirmatório o teste de soroaglutinação lenta em tubos (SAT) ponto de corte 1:100 associado ao teste de redução pelo 2-Mercaptoetanol (2ME) em titulações (1:25, 1:50, 1:100, 1:200). A prevalência de anticorpos contra *Brucella* spp. encontrados nos equinos foi de 0,15% (1 animal) com (IC 95%= 0-0,83) na titulação 1:100 (SAT) e 1:50 (2ME). A análise das variáveis levantadas (sexo, idade, sistema de manejo, finalidade econômica e interação com outros animais) como possíveis fatores associados à infecção por *Brucella* spp. não revelou a existência de associação entre estas e a soropositividade. A infecção por *Brucella* spp. presente em um único equino indica o primeiro inquérito soroepidemiológico de *Brucella* spp. na microrregião Ilhéus-Itabuna do estado da Bahia.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Anticorpos, antígeno acidificado tamponado, Bahia, *Brucella* spp., epidemiologia, equino, soroaglutinação lenta em tubos e 2 mercaptaetanol

*Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais -DCAA, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Rod. Jorge Amado, km 16, Bairro Salobrinho, Campus Soane Nazaré de Andrade, Ilhéus, BA, 45662-900, Brasil.

*Autor para correspondência: gralbu@uesc.br

¹Programa de pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Rod. Jorge Amado, km 16, Bairro Salobrinho, Campus Soane Nazaré de Andrade, Ilhéus, BA, 45662900, Brasil.

² Prefeitura Municipal de Itabuna, Centro de Controle de Zoonoses – CCZ, Itabuna, BA, Brasil.

³ Medica Veterinária, Autônoma, Ilhéus, BA, Brasil.

⁴ Laboratório de Bacteriologia Aplicada, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Antônio Carlos 6627, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG, 31270-901, Brasil.

6.1. INTRODUÇÃO

A brucelose equina caracteriza-se como doença infectocontagiosa crônica, de potencial zoonótico, causada quase que exclusivamente pela *Brucella abortus* que tem como hospedeiros naturais ou primários os bovinos. Podem ser contaminados, eventualmente, pela *Brucella suis*, que tem como hospedeiros primários os suínos domésticos (COOK & KINGSTON, 1988; ACHA & SZYFRES, 2003).

A maioria dos estudos soropidemiológicos para brucelose têm sido realizados em bovinos, ovinos, caprinos, suínos e cães, com destaque para os ruminantes (GONZALEZ et al., 2006). Em contraste, pouca ênfase tem sido dada à epidemiologia da brucelose equina, fazendo-se necessário ampliar a visão quanto a importância do equino na cadeia epidemiológica da brucelose, devido ao íntimo contato destes animais com diversas espécies, e sobretudo com os humanos, além do impacto econômico desta enfermidade que merece preocupação em virtude do comprometimento das funções zootécnicas levando os animais à incapacidade temporária para o trabalho, descarte prematuro e sacrifício (CRAWFORD et al., 1990; RADOSTITS et al., 2000; CARRAZZA et al., 2010).

A prevalência de brucelose em equinos é baixa no Brasil, variando de 0 a 6,7% (HIPOLITO et al., 1943; ARAUJO et al., 2009;). Conforme Junqueira et al. (2015) a ausência de padronização ou mesmo desenvolvimento de técnicas de diagnóstico de brucelose específicas para os solípedes, limita a interpretação de resultados e dificulta determinação das áreas com a infecção.

Brucella spp. invade o organismo dos equinos através da via oral, mucosas, conjuntivas, ocasionalmente pela formação de aerossóis e via transcutânea. Na via oral a contaminação ocorre após a ingestão de alimentos, água e fômites contaminados por descargas vaginais, restos de aborto e de placenta, principalmente das espécies bovina e suína, e ocasionalmente a contaminação pode ser proveniente de outros cavalos infectados (CALDAS et al., 1963; NIELSEN & DUNCAN, 1990; CRAWFORD et al., 2000; ACHA SZYFRES, 2003; RIBEIRO et al., 2003; THOMASSIAN, 2005; LUCERO et al., 2008).

As manifestações clínicas mais frequentes da brucelose em equinos são lesões de superfícies articulares e membranas sinoviais, como bursite, sinovite, osteoartrite e osteomielite (LANGENEGGER & SZECHY, 1961; COLLINS et al., 1971; DENNY 1973; RIBEIRO et al., 2008). Os abortos em equídeos não são frequentes (DENNY, 1973; MATHIAS & COSTA, 2007), embora ROBERTSON et al. (1973) descreveram a brucelose por *Brucella abortus* biovariedade 1 como causa de três abortamentos em éguas.

A Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) classifica a brucelose como doença da Lista B, na qual estão incluídas enfermidades que possuem significativo impacto socioeconômico e/ou para saúde pública, e que determina graves consequências no comércio de animais e seus produtos (World Organization for Animal Health - OIE, 2017).

Considerando os aspectos zoonóticos da brucelose, perdas resultantes da infecção por criadores e a falta de informações sobre a epidemiologia da brucelose em equídeos no estado, os objetivos deste estudo foram determinar a soroprevalência e os fatores associados à infecção por *Brucella* spp. em equinos da microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil.

6.2. MATERIAL E METODOS

6.2.1. População Estudada e Coleta das Amostras

Foram coletadas amostras de sangue de 666 equinos, independente do sexo, raça, faixa etária e finalidades. Os equinos foram provenientes de 56 propriedades escolhidas de forma não aleatória compreendendo os municípios de Itabuna, Itapé, Itaju do Colônia, Santa Cruz da Vitória, Ibicaraí, Floresta Azul, Jussari, Buerarema, São José da Vitória, Barra do Rocha, Gongogi e Ibirataia, mesorregião do Sul Baiano, microrregião Ilhéus- Itabuna. Todas as áreas foram georreferenciadas com o Sistema de Posicionamento Global (GPS).

O cálculo da amostra foi feito por município através do programa EpiInfo utilizando uma população de 11195 equinos (IBGE, 2015), com intervalo de confiança de 95%, considerando-se a frequência estimada de animais infectados como sendo de 50% e um erro de 4%.

As amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular, com sistema de colheita a vácuo em tubos siliconizados com capacidade de 10 ml. As amostras foram centrifugadas, durante 10 minutos, a 900 g. O soro obtido foi separado, armazenado em eppendorf, identificados e armazenado a -20°C até a realização da sorologia.

Este projeto foi desenvolvido após aprovação pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Santa Cruz- UESC, com o Processo nº 002/2013 e nº 09/2018, tendo respeitado e seguido todos os princípios éticos recomendados quanto à utilização de animais em experimentos.

6.2.2. Coleta de Informações com o uso do formulário de entrevista

Para determinar os fatores associados a soropositividade para *Brucella* spp., foi realizada uma entrevista estruturada (Apêndice A) com perguntas objetivas aos proprietários ou aos responsáveis pelas fazendas, contendo tópicos relacionados a principal atividade da propriedade, finalidade dos equinos, idade, sexo, interação com outros animais, manejo sanitário, nutricional e reprodutivo.

6.2.3. Diagnóstico

Os soros foram examinados no Laboratório de Bacteriologia Aplicada do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

As análises foram feitas através dos testes do antígeno acidificado tamponado (AAT), soroaglutinação lenta em tubos (SAT) e prova de redução do 2-mercaptoetanol (2-ME) segundo as recomendações do PNCEBT (BRASIL, 2006).

Na primeira etapa dos exames laboratoriais foi realizada a prova de triagem (AAT). Na segunda etapa, apenas os animais que foram positivos nessa prova foram submetidos aos testes confirmatórios (SAT e 2-ME).

Foram analisados os títulos para 2-ME em várias diluições (1:25, 1:50, 1:100, 1:200) com leitura em 48 horas, todos com reação completa, e para SAT, titulação 100, com reação completa que é o ponto de corte mais utilizado na literatura (CALDAS & RIBEIRO, 1958; LANGENEGGER & SZECHY, 1961; OLIVEIRA et al., 1973; GODOY & BARG, 1976; NICOLETTI et al., 1982; NIELSEN, 2002; JUNQUEIRA Jr., 2012). Os animais com resultado inconclusivo foram classificados como negativos com objetivo de aumentar a especificidade diagnóstica.

Foram consideradas positivas as amostras que se mantiveram positivas nas provas SAT (1:100) e nas provas de 2-ME em qualquer uma das titulações (1:25, 1:50, 1:100, 1:200). Estes testes indicam a presença de IgG, que são as aglutininas relacionadas com infecção, sendo os animais considerados infectados (NIELSEN, 2002).

6.2.4. Análise Estatística

Foram descritas as frequências e intervalo de confiança dos animais e propriedades soropositivas para *Brucella* spp. assim como as variáveis presentes no questionário de entrevista.

Foi realizada uma análise univariada pelo qui-quadrado (χ^2) (PEARSON, 1900) e o teste exato de Fisher (FISHER, 1922), para determinar as variáveis que tiveram associação com a soropositividade para *Brucella* spp. com $p \leq 0,2$. Essas variáveis significativas foram selecionadas e organizadas em escala decrescente de risco para construção dos modelos de regressão logística múltipla, com estimativa da força de associação por *odds ratio* ajustada (OR) e intervalo de confiança de 95%.

Para a entrada dos dados utilizou-se o modelo *forward*, sendo significativos os fatores associados com $p \leq 0,05$ (HOSMER & LAMESHOW, 2000). Os cálculos foram realizados com o auxílio do programa estatístico R Core Team, (2015).

A propriedade foi considerada positiva quando se detectou pelo menos um animal positivo. As propriedades que apresentaram animais com resultado sorológico inconclusivo, sem nenhum positivo, foram classificadas como suspeitas e excluídas das análises.

6.3. RESULTADOS

Dos 666 equinos testados, um animal (0,15%) (IC 95%= 0% a 0,83%) foi positivo para anticorpos anti-*Brucella* spp., sendo uma fêmea 0,24% (1/408) com IC 95% = (0 a 1,35), com idade de 15 anos, categorizada como animais maiores de 24 meses 0,17% (1/575) com IC95% = (0 a 0,96). Não foi encontrada associação entre sexo ou idade e soropositividade para *Brucella* spp.

Não foi encontrada associação do sistema de manejo (baia, baia porta aberta e a pasto), finalidade econômica (comercio, reprodução, esporte e trabalho) e interação com outros animais (bovinos, suínos, ovinos, aves, asininos e muaras) com a soropositividade para *Brucella* spp.

A prevalência de anticorpos anti-*Brucella* spp. em equinos em cada município analisado da microrregião de Ilhéus- Itabuna, empregando-se, como triagem o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) e como

confirmatório o teste de soroaglutinação lenta em tubos (SAT) ponto de corte 1:100 associado ao teste de redução pelo 2-Mercaptoetanol (2ME) em titulações $\geq 1:25$ são apresentadas no Tabela. 1.

Observa-se que o município de Itajú do Colônia foi o único que apresentou positividade para *Brucella* spp. (0,54%), IC= 95% (0,01 a 2,9). Tendo o único animal positivo, apresentando a titulação para SAT 1:100 e 2ME 1:50.

Tabela 1. Prevalência de anticorpos anti-*Brucella* spp. em equinos, por município, na Microrregião Ilhéus- Itabuna do Estado da Bahia- Brasil

Município	N	AAT		SAT 1:100 (%)		2ME $\geq 1:25$ (%)	
		N (%)	IC (95%)	N (%)	IC (95%)	N (%)	IC (95%)
Barra do Rocha	14	2 (14.30)	1.8 – 42.8	2 (14.30)	1.8 – 42.8	0	0 – 23.1
Buerarema	41	1 (2.44)	0.06 – 12.8	1 (2.44)	0.06 – 12.8	0	0 – 8.6
Floresta Azul	100	4 (4.0)	1.1 – 9.9	2 (2.0)	0.2 – 7.0	0	0 – 3.6
Gongogi	25	2 (8.0)	0.9 – 26.0	2 (8.0)	0.9 – 26.0	0	0 – 13.7
Ibicarai	75	5 (6.6)	2.2 – 14.8	4 (5.3)	1.4 – 13.1	0	0 – 4.8
Ibirataia	32	2 (6.25)	0.7 – 20.8	2 (6.25)	0.7 – 20.8	0	0 – 10.9
Itabuna	28	2 (7.1)	0.8 – 23.5	1 (3.5)	0.09 – 18.3	0	0 – 12.3
Itaju do Colônia	185	11 (5.9)	3.0 – 10.4	4 (2.1)	0.6 – 5.4	1 (0.54)	0.01 – 2.9
Itapé	74	9 (12.1)	5.7 – 21.8	5 (6.7)	2.2 – 15.07	0	0 – 4.8
Jussari	26	2 (7.7)	0.9 – 25.1	1 (3.8)	0.09 – 3.8	0	0 – 13.2
Santa Cruz da Vitória	54	4 (7.4)	2.0 – 17.9	2 (3.7)	0.4 – 12.75	0	0 – 6.6
São José	12	2 (16.6)	2.1 – 48.4	1 (8.3)	0.2 – 38.5	0	0 – 26.4
Geral	666	46 (6.9)	5.1 – 9.1	27 (4.05)	2.7 – 5.8	1 (0.15)	0 – 0.83

OR: chances de ocorrer (*odds ratio*); IC 95%: intervalo de confiança de 95%. Valor de p para o nível de significância (α) de 5% pelo teste exato de Fisher.

6.4. DISCUSSÃO

Neste estudo a prevalência de *Brucella* spp. em equinos foi de 0,15%, sendo semelhante ao encontrado por Antunes et al. (2013), no Estado do Paraná (0,81%), Chaves et al. (2015), no Estado do Maranhão (0,96%) Dorneles et al. (2013), no Estado do Rio Grande do Norte (1,76%), menor do que descrita por e Aguiar et al. (2008) e no Estado de Rondônia (3,70%). Araújo et al. (2009) e Carrazza et al. (2010) ao verificar a prevalência de *Brucella* spp. em equinos no estado de Minas Gerais, na Região de Zona da Mata e no município de Uberlândia respectivamente, ambos obtiveram uma prevalência nula. Essas variações na prevalência poderiam ser explicadas devido aos distintos ecossistemas em que estes equinos estavam inseridos, já que todos os autores utilizaram-se do mesmo teste de diagnóstico confirmatório presente (PNCEBT), redução pelo 2-Mercaptoetanol (2ME).

Apesar do mecanismo de transmissão da brucelose equina não estar bem esclarecido, considera-se que a infecção seja favorecida pela coabitação com outras espécies domésticas. Sabe-se que a coabitação dos equinos com outros animais domésticos, em especial bovinos, bubalinos e suínos, predispõe a Brucelose equina (LANGENEGGER & SZECHY, 1961). Sugere-se que os equinos se infectem pela ingestão de água e alimentos contaminados por descargas vaginais, restos de abortamentos e de placenta (LANGENEGGER; SZECHY, 1961).

A prevalência da brucelose bovina e suína no estado da Bahia é considerada relativamente baixa, de 0,66% em bovinos (ALVES et al., 2009) e 0,11 % em suínos (BATISTA et al., 2016). Apesar de não se ter um programa de controle sanitário de brucelose específico para equinos, a baixa prevalência mostra que a eficiência do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) no estado da Bahia tem se destacado positivamente por tratar da Brucelose como uma zoonose causadora de consideráveis prejuízos econômicos e sociais, em virtude do impacto que produz na produtividade dos rebanhos e dos riscos que acarretam à saúde humana.

No presente estudo, o animal positivo é uma fêmea de 15 anos, sem sintomas clínicos, com a finalidade econômica destinada a reprodução, mantida no sistema de pastejo com bovinos proveniente de uma propriedade com atestado de vacinação de brucelose em bovinos em campanhas oficiais, porém sem a certificação de propriedade livre, monitorada para brucelose e tuberculose, cuja a adesão é voluntária de acordo com a aplicação das normas técnicas estabelecidas pelo PNCEBT. Os poucos relatos de equinos infectados estavam em sistema de pastejo no mesmo piquete que bovinos positivos para brucelose (BRAZIL et al., 2008; AMARAL & SILVA, 2010).

Quanto a idade, o animal sênior está mais vulnerável a infecção a *Brucella* spp., pelo fato destes ficarem mais tempo expostos ao agente durante o seu tempo de vida, visto que a bactéria permanece viável por vários meses em fetos, pastos e água contaminada, favorecendo a manutenção do patógeno no ambiente e a infecção nos plantéis (DENNY, 1973; COHEN et al., 1992; PAULIN, 2003; ROSA et al., 2006).

Outro ponto importante, é o fato de que os equinos permanecem por longos períodos nas propriedades, cerca de 15 a 20 anos, o tornando um potencial reservatório por apresentar casos de latência, podendo ainda introduzir a doença em propriedades ou áreas livres. Esses animais tornam-se assintomáticos por meses, manifestando tardiamente os processos lesionais como a fistula de cernelha, que contém exsudato altamente rico em *Brucellas* viáveis, e isso deve ser levado em consideração como fator de contaminação ambiental para os equinos, outras espécies domésticas e para a infecção humana (PAULIN, 2003; RIET-CORRÊA et al., 2003; THOMASSIAN, 2005; CORBEL et al., 2006).

Além disso os equinos brucélicos podem atuar como fonte de infecção para o homem, tanto no campo, como em matadouros e ainda como riscos aos consumidores da carne equina em países em que se tem o hábito do consumo. (CARPENTER & BOAL, 1937; CALDAS et al., 1963). Devido a brucelose ser uma zoonose que apresenta um forte componente de caráter ocupacional, a estreita convivência de determinadas categorias profissionais (Tratadores, Médicos Veterinários, Magarefes, Donas-de-casa, Policiais, Laboratoristas, Carroceiro e Desportistas) e usuários em atividades de lazer pode oferecer maior risco de infecção (BRASIL, 2006; ARRUDA et al., 2012).

Não foi encontrada associação com qualquer das variáveis analisadas neste estudo (sexo, idade, sistema de manejo, finalidade econômica e interação com outros animais), visto ao único animal positivo.

O presente estudo é o primeiro inquérito soroepidemiológico de *Brucella* spp. em equinos no Estado da Bahia com o registro de um animal positivo na microrregião Ilhéus- Itabuna. A importância dessa zoonose e de seu papel para a saúde pública é muito amplo, assim como os seus impactos econômicos no agronegócio bovino e no mercado equino. Apesar dos equinos não estarem no foco do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT estes podem ser incluídos nas mesmas medidas a serem adotadas aos bovinos. Os equinos atuam como agentes de disseminação da *Brucella* spp., e podem auxiliar como parâmetro

da eficiência do PNCEBT, assim como orientar as medidas de promoção e proteção que devem ser adotadas a nível da saúde humana e animal.

REFERÊNCIAS

Acha P.N & Szifres B. (Ed).2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington: Organización Panamericana de la Salud, p.28-56.

Aguiar D. M., Cavalcante G. T., Lara M. C. C. S. H., Villalobos E. M. C., Cunha E. M. S., Okuda L. H., Stefano E., Nassar A. F. C., Souza G. O., Vasconcellos S. A., Labruna M. B., Camargo L. M. A & Gennar I, S. M. 2008. Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do município de Monte Negro, Rondônia. Amazônia Ocidental Brasileira. *Braz. J. Vet. Reser. Animal. Sci.* 45 (4): 269-276.

Alves A.J.S., Gonçalves V.S.P., Figueiredo V.C.F., Lôbo J.R., Bahiense L., Amaku M., Ferreira F., Ferreir A., Neto J.S & Dias R.A. 2009. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61: 6-13.

Amaral, R.L.G & Silva, L.B.G.2010. Diagnóstico de brucelose em equinos em uma propriedade rural no município de Sairé/PE. In X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX 2010 – UFRPE, Recife. Anais... Recife.

Antunes J. M. A. P., Allendorf S. D., Appolinário C. M., Peres M. G., Perotta J. H., Neves T. B., Deconto I, Barros Filho I. R., Biondo A.W & Megid J. 2013. Serology for *Brucella abortus* in cart horses from an urban area in Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65(2):619-621.

Araujo R.R., Pena L.J., Dias F.M & Moraes M.P. 2009. Ocorrência de anticorpos anti- *Brucella* spp. em equídeos da região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Arq. Inst. Biol., São Paulo*, 76 (4) :681-684.

Arruda F.R., Silva M.H., Soares Filho P.M., Campos A.C & Azevedo E.O. 2012. Brucelose equina no Estado da Paraíba. *Medicina Veterinária (Recife)*, 6:7-10.

Batista M.B. 2016. Investigação soropidemiológica de *Brucella* spp. em suínos no estado da Bahia. Dissertação do mestrado. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 84f.

Brasil 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária - Departamento de Saúde Animal. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) – Manual Técnico. Brasília: MAPA / DAS / DSA, p.188.

Brasil 2016. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>> Acesso em 10 set. 2016.

Brasil D. S. et al. 2008. Ocorrência de brucelose em equinos manejados juntamente com bovinos: relato de dois casos. *Anais Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Gramado, RS, p.35.

Caldas A.D & Ribeiro L.O.C.1985. Ocorrência da brucelose equina no Estado de São Paulo causada pela *Brucella abortus*. *O Biológico*, 24:46-49.

Caldas A.D & Queiroz J.C.1963. Brucelose equina no Estado de São Paulo –Inquérito Sorológico. *O Biológico*. 29:135-137.

Carpenter C. M & Boak R. A.1937. The Significance of the Horse in Brucellosis. *J. Microbiol*, 33(1):40.

Carraza L.G. et al.2010. Soropidemiologia da brucelose em equinos de tração em áreas urbanas no município de Uberlândia- MG. *Revta Horiz. Cient.* 4(2).

Chaves D.P., Brito D.R.B., Santos A.C.G., Vaz J.F.R & Anunciação A.R.2015. Soroprevalência de mormo, anemia infecciosa equina e brucelose do cavalo baixadeiro. *Revta. Bras. Ciênc. Vet.* 22(1).

Cohen N. D., Carter G.K & Mullan W.C. 1992. Fistulous withers in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201:121-124.

- Collins J. D., Kelly W. R., Twomey T., Farrelly B. T & Whitty B. T. 1971. Brucella-associated vertebral osteomyelitis in a thoroughbred Mare. *Vet. Rec.* 88 (13):321-326.
- Cook D.R & Kington G.C. 1988. Isolation of *Brucella suis* biotype 1 from a horse. *Aust. Vet. J.* 65:162-163.
- Corbel M. J., Elberg S. S. & Cosivi O. 2006. Brucellosis in humans and animals. EUA: World Health Organization.p.7.
- Crawford R.P., Huber J.D & Adams B.S.1990. Epidemiology and Surveillance. In: Nielsen K., Duncan J.R. (Eds) Animal brucellosis. EUA, p.131-151.
- Crawford, R. P.; Huber J. D & Adams B. S. 2000. Epidemiology and Surveillance. In: Nilsen K., Ducan J. R. Animal Brucellosis. Florida, 7:131- 151.
- Denny H. R. 1973. A review of brucellosis in the horse. *Equine Vet. J.* 5(3):121-125.
- Dorneles E. M. S., Fernandes L. G., Santana J. A., Freitas F. J.C., Lima J. M., Barros I. O., Sakamoto S. M., Heinemann M. B & Lage A. P.2013. Anti-*Brucella abortus* antibodies in free-ranging equids from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias.* 34 (3):1281-1286.
- Fisher R. A.1922. On the interpretation of χ^2 from contingency tables, and the calculation of P. *J. Royal Stat. Soc.*, 85(1): 87-94.
- Godoy A.M & Barg L 1976. Aspectos ecológicos da infecção brucélica 2 - Investigação sorológica em cavalos de corrida. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 28:121-123.
- González R.A., Gonzáles-Reyes, I & Flores-Gutiérrez G.H. 2006. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in equines of a tropical region of México. *Can. Vet. J.* 70: 302-304.
- Hipólito O., Souza R. & Gióvine, N. 1943. Brucelose e soro-aglutinação em Minas Gerais. *Anais do II Congresso Brasileiro de Veterinária*, p. 235.
- Hosmer Jr. D. W. & Lemeshow S. 2000. Applied logistic regression. Second Edition, New York: John Wiley & Sons, p.375.
- Junqueira Jr. D.G. 2012. Soroprevalência da brucelose em equídeos de serviço, o em Minas Gerais, 2003-2004. Dissertação de mestrado. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Junqueira, et al. 2015. Brucellosis in working equines of cattle farms from Minas Gerais State, Brazil. *Prev. Vet. Med.* 121:380 -385.
- Langenegger J. & Szechy A.M. 1961. Brucelose dos equídeos domésticos - isolamento de *Brucella abortus* de bursites de cernelha no Brasil. *Arq. Inst. Biol.* 4: 49-63.
- Lucero N.E., Ayala S.M., Escobar G.I. et al. 2008. Brucella isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol. Infect.*136:496-503.
- Mathias L. A. & Costa M. 2007. Brucelose bovina e equina. In: CORREA, F. R. et al. Doenças de ruminantes e equídeos. 3. ed. Santa Maria: Pallotti. 1(3):225-240.
- Nicoletti P.L., Mahler J.R. & Scarratt W.K. 1982. Study of agglutinins to *Brucella abortus*, *B.canis* and *Actinobacillus equuli* in horses. *Equine Vet J.* 14: 302-304.
- Nielsen K. 2002. Diagnosis of brucellosis by sorology. *Vet. Microbio. Amsterdam.* 90:447-459.

Nielsen K & Duncan JR. 1990. Animal brucellosis. USA: CRC Press, p.453.

Office Internacional des Epizooties. Código zoosanitário internacional. Enfermidades dos bovinos da lista B. Recomendações aplicáveis às enfermidades específicas. Disponível em: <<http://www.oie.int.htm>>. Acesso em: 10 de dezembro de 2002.

Oliveira Q.C., Moreira V.S. & Lima C.S. 1973. Brucelose em equinos. Rveta Bras. Med. Vet. 9:93-106.

Paulin L.M.2003. Brucelose. Arq. Inst. Biol. 70 (2):239-249.

Pearson K. 1900. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can reasonably be supposed to have risen from random sampling. Philos. Mag, 5:157-175.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2015.

Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. et al. 2000. *Veterinary medicine*. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 9. ed. London: W.B. Saunders, p.867-891.

Riet-Corrêa F., Schild A.L., Méndez M.C. & Lemos R. 2003. Doenças de ruminantes e equinos. 2.ed. São Paulo: Varela, p.187-197.

Ribeiro M.G., Nardi J. G., Megid J., Paes, A.C. & Liston F.J.P. 2003. Anti-Brucella abortus agglutinins in serum and secretion of fistulous withers in horses. Arq. bras. med. vet. zootec., 55: 99-101.

Ribeiro M.G., Motta R.G. & Almeida C.A.S. 2008. Brucelose equina: aspectos da doença no Brasil. Rveta Bras. Reprod. Anim. 32: 83-92.

Robertson F.J., Milne J., Silver C.L. & Clark H. 1973. Abortion associated with Brucella abortus (biotype1) in mare. Vet. Rec. 92:480-481.

Rosa I., Gonzales A., Reyes G.I. & Gutierrez F.H.G. 2006. Prevalence of Brucella abortus antibodies in equines of a tropical region of México. Can. J. Vet. Res.70:302-304.

Thomassian A. 2005. Enfermidades dos cavalos. São Paulo: editora: Varela, p. 451-474.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante esta tese foram analisados a soroprevalência das infecções por Herpesvírus equino (EHV-1 /EHV-4), *Sarcocystis neurona* e *Brucella* spp. em cavalos da microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia-Brasil.

No artigo científico I, observa-se a alta prevalência de herpesvírus equino (EHV-1 /EHV-4) em animais não vacinados e a importância desta enfermidade frente ao aspecto socioeconômico e epidemiológico na região por se tratar de uma doença controlável através de medidas profiláticas como a vacinação estratégica no rebanho equino. A maioria das vacinas contendo antígenos do EHV-1 é comercializada como vacinas polivalentes, associadas com antígenos do EHV-4, EIV (vírus da influenza equina), tétano, EEEV e WEEV (vírus da encefalite equina leste e oeste) o que confere a imunização contra outras enfermidades de impacto socioeconômico e para saúde pública. Cabe ao profissional da área em especial ao médico veterinário alertar sobre a importância do controle sanitário e os riscos associados a esta falha de manejo, auxiliando na implementação de estratégias de controle e prevenção dessas enfermidades, através da conscientização da comunidade inserida na área. Além disso estes resultados possibilitam aos médicos veterinários maior campo de ação frente ao diagnóstico clínico da enfermidade e a terapêutica correta a ser implementada, visto que esta por muitas vezes, torna-se confundível com outras enfermidades. Por fim faz-se necessário uma maior vigilância desses agentes infecciosos em nível regional pelas autoridades competentes.

No artigo científico II, observa-se a baixa prevalência de anticorpos anti-*Sarcocystis neurona* em equinos e a negatividade para *S. neurona* dos *Didelphis albiventris* e *Didelphis aurita* capturados, demonstrando que os equinos foram expostos em algum momento de sua vida ao *S. neurona*. Porém existe a necessidade de mais pesquisas para determinar os fatores de risco associados a infecção dos equinos ao *S. neurona*. Outro ponto importante observado é a dispersão do *Didelphis* spp. do seu habitat natural em meio as propriedades

estudadas devido ao seu caráter antrópico e a disponibilidade da biodiversidade alimentar, o que corrobora com o fato de os Gambás capturados estarem negativos. Um fator limitante quanto a mais pesquisas quanto a positividade de *S. neurona* nos *Didelphis* spp. foi o número limitado de captura autorizados pelo CEUA/UESC, correspondendo somente a 25 animais.

No artigo científico III, observa-se o primeiro inquérito soropidemiológico de *Brucella* spp. em equinos com o registro de um animal positivo. A importância dessa zoonose e de seu papel para a saúde pública é muito amplo, assim como os seus impactos econômicos no agronegócio bovino e no mercado equino. Apesar dos equinos não estarem no foco do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT estes podem ser incluídos nas mesmas medidas a serem adotadas aos bovinos. Os equinos atuam como agentes de disseminação da *Brucella* spp., e podem auxiliar como parâmetro da eficiência do PNCEBT, assim como orientar as medidas de promoção e proteção que devem ser adotadas a nível da saúde humana e animal.

REFERÊNCIAS

ACOSTA-GONZÁLEZ, R. I.; GONZÁLEZ-REYES, I.; FLORES-GUTIÉRREZ, G. H. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in equines of a tropical region of Mexico. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 70, p. 302–304, 2006.

ACHA, P.N.; SZIFRES, B. (Ed). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington: Organización Panamericana de la Salud, p.28-56, 2003.

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; LARA, M. C. C. S. H.; VILLALOBOS, E. M. C.; CUNHA, E. M. S.; OKUDA, L. H.; STEFANO, 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 Veterinary Research Animal Science**, v. 45, n. 4, p. 269-276, 2008.

ALÉSSIO, F.M.; MENDES PONTES, A.R. & SILVA, V.L. Feeding by *Didelphis albiventris* on tree gum in northeastern Atlantic Forest in **Brazilian Mastozoologia Neotropical**, v.12, n.1, p. 53-56, 2005.

ALLEN, G. P.; BRYANS, J. T. Molecular epizootiology, pathogenesis, and prophylaxis of equine herpesvirus-1 infectious. In: PANDEY, R. Progress in veterinary microbiology and immunology: **Veterinary Microbiology**. Basel: D. Karger, p. 78-144.1986.

ALLEN, G. P.; Epidemic disease caused by Equine herpesvirus -1: recommendations for prevention and control. **Equine Veterinary Education**, v.14, n.3, p.177-184, 2002a.

ALLEN, G.P. Epidemic disease caused by Equine herpesvírus-1: recommendations for prevention and control. **Equine Veterinary Education**, v. 14, n. 3, p. 136-142, 2002b.

ALVES, A.J.S.; GONÇALVES, V.S.P.; FIGUEIREDO, V.C.F.; LÔBO, J.R.; BAHIANSE, L.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S.; DIAS, R.A. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.6-13, 2009.

AMARAL, R.L.G, SILVA, L.B.G. Diagnóstico de brucelose em equinos em uma propriedade rural no município de Sairé/PE. In X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX 2010 – UFRPE, Recife. **Anais...** Recife. 2010.

ALMEIDA, C.A.S.; RIBEIRO, M.G.; MEGID, J.; VASCONCELLOS, A.S.; BORGES, A.S.; BONESI, G. Ocorrência de aglutininas anti*Brucella abortus* em

soros de equídeos de abatedouro. In: Congresso Nacional de Saúde Pública Veterinária, 2, 2007, Fortaleza, CE. Fortaleza: CNSPV, 2007. (CD-ROM).

ANDRADE, A., PINTO, SC., and OLIVEIRA, RS, orgs. Animais de Laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, p.388, 2002.

ANTONELLO, A.M, PIVOTO, F.L, CAMILLO, G, BRAUNIG, P, SANGIONIL, L.A, POMPERMAYER, E, VENTURINI, M.C, VOGEL, F.S.F. Investigação de anticorpos contra *Sarcocystis neurona* e *Sarcocystis cruzi* em equinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.67, n.5, p.1465-1468, 2015.

ANTUNES, J. M. A. P.; ALLENDORF, S. D.; APPOLINÁRIO, C. M.; PERES, M. G.; PEROTTA, J. H.; NEVES, T. B.; DECONTO, I.; BARROS FILHO, I. R.; BIONDO, A.W.; MEGID, J. Serology for *Brucella abortus* in cart horses from an urban area in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p.619-621, 2013.

ARARIPE, M. G. A.; MAIA, D. C.B.S.C.; CAMPELO, C.C.; JUNIOR, A. S.; SILVA, M.C.; DIAS, A.V.; MEDEIROS, C.M.O.; PINHEIRO, D.D.S.N. Evidências sorológicas de EHV-1 / EHV-4 em cavalos de vaquejada no estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.8, n.2. 2014.

ARAUJO, R.R. PENA, L.J; DIAS, F.M; MORAES, M.P. Ocorrência de anticorpos anti- *Brucella* spp. em equídeos da região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n. 4, p. 681-684, 2009.

ARDANS, A.A. Herpesviridae. In: HIRSH, D.C. & ZEE, Y.C. (Eds) **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.327-330, 2003.

ARIAS, M., YEARGAN, M., FRANCISCO, I., DANGOUDOUBIYAM, S., BECERRA, P., FRANCISCO, R., SÁNCHEZ-ANDRADE, R., PAZ-SILVA, A., HOWE, D.K. Exposure to *Sarcocystis* spp. in horses from Spain determined by Western blot analysis using *Sarcocystis neurona* merozoites as heterologous antigen. **Vet. Parasitol.**, v.185, n.2-4, p.301-4, 2012.

ARRUDA, F.R; SILVA, M.H; SOARES FILHO, P.M; CAMPOS, A.C; AZEVEDO, E.O. Brucelose equina no Estado da Paraíba. **Medicina Veterinária (Recife)**, v. 6, p.7-10, 2012.

AZAB, W.; BEDAIR, S.; ABDELGAWAD, A.; ESCHKE, K.; FARAQ, G.K.; ABDEL-RAHEIN, A.; GREENWOOD, A.D.; OSTERRIEDER, N.; ALI, A.A.H. Detection of equid herpesviruses among different Arabian horse populations in Egypt. **Veterinary Medicine and Science**.v.5, n.3, p. 361-371, 2019.

BARROS, C.S.L.; BARROS, S.S.; SANTOS, M.N.; SILVA, C.A.M.; WAIHRICH, F. Mieloencefalite equina por protozoário. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.6, n.2, p.45-49, 1986.

BATISTA, M.B. Investigação soropidemiológica de *Brucella* spp. em suínos no estado da Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 2016.

BEECH, J.; DODD, D.C. Toxoplasma-like encephalomyelitis in the horse. **Veterinary Pathology**, v.11, p. 87-96, 1974.

BENTZ, B.G., GRANSTROM, D.E., STAMPER, S. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in a county of southeastern Pennsylvania. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.210, p. 517-518, 1997.

BENTZ, B.G. Infectious Nervous-System Disorders. Equine Neurological Disorders, **Horse Health Care Library**, v.127, p.26-41, 2001.

BENTZ, B.G.; EALEY, K.A.; MORROW, J.; CLAYPOOL, P.L.; SALIKI, J.T... Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in equids residing in Oklahoma. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.15, n.1, p.597-600, 2003.

BLYTHE, L.L., GRANSTROM, D.E., HANSEN, D.E., WALKER, L.L., BARTLETT, J., STAMPER, S. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Oregon. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.210, p. 525-527, 1997.

BONVICINO, C. R. et al. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa-OPAS/OMS, p. 120, 2008.

BRAZIL, D. S. et al. Ocorrência de brucelose em eqüinos manejados juntamente com bovinos: relato de dois casos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35.,2008, Gramado. **Anais...** Gramado: 2008.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária - Departamento de Saúde Animal, 2006. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) – Manual Técnico. Brasília: MAPA / DAS / DSA, p.188, 2006.

BRASIL, E.A.; COSTA, R. R.; OLIVEIRA, T.S.; FURTINI, R.; JÚNIOR FONSECA, A.A; PAIXÃO, T.A.; SANTOS, R.L. Santos. Diagnóstico etiológico de enfermidades do sistema nervoso central de equinos no Estado de Minas Gerais, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. V.67, n.2, 2015.

BRASIL (2016). MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Equídeos – MAPA. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>. Acessado em:22/06/2016.(a)

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>> Acesso em 10 set. 2016.(b)

BROWN, C. M.; MORROW, J. K., CARLETON, C.L., RAMANATHAN, B.; REDDY, R.; VAIDYA, V., KARTHIKEYAN, S. M., ZULFIKAR, A. A., KANNADKAR, V.S. Persistence of serum antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses moved from North America to India. *J. Vet. Intern. Med.*, v.20, n.4, p.994-7, 2006.

CALDAS, A.D.; RIBEIRO, L.O.C. Ocorrência da brucelose equina no Estado de São Paulo causada pela *Brucella abortus*. **O Biológico**, v.24, p.46-49, 1958.

CALDAS, A.D.; QUEIROZ, J.C. Brucelose equina no Estado de São Paulo – Inquérito Sorológico. **O Biológico**. v.29, p.135-137, 1963.

CALDERÓN, A.; RODRÍGUEZ, V.; HENAO, A. G.; AGUAS, L. J.; Soro prevalência de *Sarcocystis neurona* em caballos de Montería (Córdoba, Colômbia). **Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica**. v.2, n.17, p.453-459, 2014.

CARPENTER, C. M.; BOAK, R. A. The Significance of the Horse in Brucellosis. **Journal of Bacteriology**, v. 33, n. 1, p. 40, 1937.

CARDOSO, P.G.; MACEDO, G.C.; AZEVEDO, V.; OLIVEIRA, S.C. *Brucella* spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. **Microbial Cell Factories**, v 5, n. 13, 2006.

CARRAZZA, L. G.; JUNQUEIRA, Y. F.; OLIVEIRA, P. R.; LIMA-RIBEIRO, A. M. C. Soroepidemiologia da brucelose em equinos de tração em áreas urbanas do município de Uberlândia - MG. **Horizonte Científico**, Uberlândia, v. 4, n. 2, p. 1-18, 2010.

CARRIGAN, M.J.; COCKRAM, F.A.; NASH G.V. *Brucella abortus* biotype 1 arthritis in a horse. **Australian Veterinary Journal**, v.64, p.190, 1987.

CARVALHO, R.; OLIVEIRA, A. M.; SOUZA, A. M.; PASSOS, L. M. F.; MARTINS, A. S. Prevalence of equine herpesvirus type 1 latency detected by polymerase chain reaction. **Archive of Virology**, v. 145, n. 9, p. 1773-1787, 2000.(b)

CARVALHO, R.; PASSOS, L.M.F.; OLIVEIRA, A.M.; HENRY, M.; MARTINS, A.S. Detection of equine herpesvirus 1 DNA in a single embryo and in horse sêmen by polymerase chain reaction. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, n. 4, p. 302-306, 2000a.

CARVALHO, R. F.; CUNHA, E. M. S.; CARON, L.; DOMINGUES, H. G.; D'ARCE, R. C. F.; COSWIG, L. T.; ALMEIDA, R. S.; ARNS, C. W. A new brazilian isolate of the abortogenic equine vírus (equine herpesvirus type 1). *Virus Reviews*

Research, v. 9, p. 79. Supplement 1. Trabalho apresentado no XVI Encontro Nacional de Virologia. 2004.

CASTRO, AC, GONZALEZ, RS, Prat IM. Brucellosis: uma revision practica. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, v.39, p.203- 216, 2005.

CASTRO, E.R.; ARBIZA, J. Detection and genotyping of equid herpesvirus 1 in Uruguay. **Revue scientifique et technique**. v.36,n.3, p.799-806, 2017.

CDC, Center for Diseases Control and Prevention (CDC). Brucellosis. Acessado em: Outubro de 2013. <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/brucellosis>.

CHAVES, D.P.; BRITO, D.R.B.; SANTOS, A.C.G. et al. Soroprevalência de mormo, anemia infecciosa equina e brucelose do cavalo baixadeiro. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.22, p.39-42, 2015.

CHESTERS, P.M.; ALLOP, R.; PUREWAL, A.; EDINGTON, N. Detection of latency-associated transcripts of equid herpesvirus 1 in equine leukocytes but not in trigeminal ganglia. **Journal of Virology**. v.71, p. 3437–3443, 1997.

CHRINSIDE, E.; SINCLAIR, R.; MUMFORD, J.A. Doenças respiratórias virais. *In*: REED, S.M.; BAYLE, W.M. **Medicina interna equina**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap 2.2, p.79-85. 2000.

COHEN, N. D.; CARTER, G. K.; MULLAN, W. C. Fistulous withers in horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 201, p. 121- 124, 1992.

COLLINS, J. D.; KELLY, W. R.; TWOMEY, T.; FARRELLY, B. T.; WHITTY, B. T. Brucella-associated vertebral osteomyelitis in a thoroughbred Mare. **Veterinary Record, London**, v. 88, n. 13, p. 321-326, 1971.

COOK, A. G.; BUECHNER-MAXWELL, V.; MORROW, J. K.; WARD, D. L.; PARKER, N. A.; DASCANIO, J. J.; LEY, W. B., COOPER, W. Interpretation of the detection of *Sarcocystis neurona* antibodies in the serum of young horses. **Veterinary Parasitology**. v.95, p.187–195, 2001.

COOK, D.R.; KINGSTON, G.C. Isolation of *Brucella suis* biotype 1 from a horse. **Australian Veterinary Journal**, v.6, p.162-163, 1988.

CORBEL, M. J., ELBERG S. S. & COSIVI O. Brucellosis in humans and animals. EUA: World Health Organization. p.7, 2006.

CORREA F. R., CORREA G. R, SCHILD A. L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e equídeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.22 n.4, 2002.

COSTA, E. A.; LIMA, G.B.; CASTRO, R.T.; FURTINI, R.; PORTILHO, R.V.; RESENDE, M. Meningoencephalitis in horse associated with equine herpesvirus 1. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.6, 2008.

COSTA, E.A.; ROSA, R.; OLIVEIRA, TAISMARA S.; FURTINI, R.; FONSECA Jr., A.A.; PAIXÃO, T. A.; SANTOS, R. L. Encefalites equinas no estado de Minas Gerais, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 391-399, 2015.

CRABB, B.S., STUDDERT, M.J. Epitopes of glycoprotein G og equine herpesvirus 4 and 1 located near the C- termini elicit type-specific antibody responses in the natural host. **Journal of Virology**, n.67, p.6332-6338, 1993.

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

CRAWFORD, R.P.; HUBER, J.D.; ADAMS, B.S. Epidemiology and Surveillance. In: Nielsen K., Duncan J.R. (Eds) **Animal brucellosis**. EUA: CRC Press. p.131-151,1990.

CRAWFORD, R. P.; HUBER, J. D.; ADAMS, B. S. Epidemiology and Surveillance. In: NIELSEN, K.; DUNCAN, J. R. **Animal Brucellosis**. Florida, cap. 7, p. 131– 151, 2000.

CROSSMAN, P.J.; BONSON, M.D. Abortion in a donkey associated with *Brucella abortus*. **Veterinary Record**, p.607-608, 1968.

CUNHA, E.M.S.; VILALOBOS, E.M.C.; NASSAR, A.F.C.; LARA, M.C.C.S.H.; PERES, N.F.; PALAZZO, J.P.C.; SILVA, A.; STEFANO, E.; PINO, F.A. Prevalência de anticorpos contra agentes virais em equídeos no Sul do estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.2, p.165-171, 2009.

CUNHA, E. M. S.; DE FERRARI, C. I.; LARA, M. C. C. S. H.; SILVA, L. H. Q. Presença de anticorpos contra o herpesvírus equino 1 (HVE-1) em equinos no noroeste do estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 1, p. 1-5, 2002.

CUSICK, P.K.; SELLS, D.M.; HAMILTON, D.P.; HARDENBROOK, H.J. Toxoplasmosis in two horses. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 164, p. 77-80, 1974.

CVETNIC, Z., SPICIC, S., CURIC, S., JUKIC, B., LOJKIC, M., ALBERT, D., THEÉBAUD, M., GARIN-BASTUJI, B. Isolation of *Brucella suis* biovar 3 from horses in Croatia. **Veterinary Record**. v. 156, p.584–585, 2012.

CVETNIC, Z.; SPICIC, S.; CURIC, S.; JUKIC, B.; LOJKIC, H.; ALBERT, D.; THIÉBAUD, H.; GARIN-BASTUJI, B. Isolamento de *Brucella suis* biovar 3 de cavalos na Croácia. **Veterinary Record**, v.156, n.18, p. 584-5, 2005.

DAFT, B.M., BARR, B.C., GARDNER, I.A., READ, D., BELL, W., PEYSER, K.G., ARDANS, A., KINDE, H., MORROW, J.K.. Sensitivity and specificity of Westernblot testing of cerebrospinal fluid and serum for diagnosis of equineprotozoal myeloencephalitis in horses with and without neurologic abnormalities. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. V.221, p.1007–1013, 2002.

DAJER, A.; LUNA-MARTÍNEZ, E.; ZAPATA, D.; VILLEGAS, S.; GUTIÉRREZ, E.; PEÑA, G.; GURRÍA, F.; NIELSEN, K.; GALL, D. Evaluation of a fluorescencepolarization assay for the diagnosis of bovine brucellosis en México. **Preventive Veterinary Medicine**, v.40, n.1, p.67-73, 1999.

DENNY, H.R. Brucellosis in the horse. *Veterinary Record*. v.90, p.86-91, 1972.
DENNY, H. R. A review of brucellosis in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 5, n. 3, p. 121-125, 1973.

DEEM, A.V. Brucella abortus in horses. **Journal of Infectious Diseases**, v.61, p.21-25, 1937.

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.

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

DIEL, D. G.; ALMEIDA, S. R.; WEIBLEN, R.; FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D.; KREUTZ, L. C.; GROFF, F. H. S.; FLORES, E. F. Prevalência de anticorpos contra os vírus da influenza, da arterite viral e herpesvírus em equinos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1467-1473, 2006.

DORNELES, E. M. S.; FERNANDES, L. G.; SANTANA, J. A.; FREITAS, F. J.CORREA; LIMA, J. M.; BARROS, I. O.; SAKAMOTO, S. M.; HEINEMANN, M. B.; LAGE, A. P. Anti-Brucella abortus antibodies in free-ranging equids from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. Semina: **Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1281-1286, 2013.

DOLL, E.R.; BRYANS, J.T.; MCCOLLUM, W.H.; CROWE, M.E.W. Isolation of a filterable agent causing arteritis of hors and aborting by mares: Its differentiation from the equine abortion (influenza) virus. **Cornel veterinary**, n.57, p. 3-41, 1957.

DUARTE, P. C.; DRAFT, B. M.; CONRAD, P. A.; PACKHAM, A. E.; GARDNER, I. A. Comparison of a serum indirect fluorescent antibody test with two western blot tests for the diagnosis of the equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.1, n.15, p.8-13, 2003.

DUARTE, P. C., DAFT, B. M., CONRAD, P. A., PACKHAM, A. E., SAVILLE, W. J., MACKAY, R. J., BARR, B. C., WILSON, W. D., NQ, T., REED, S. M. & GARDNER, I. A. Evaluation and comparison of an indirect fluorescent antibody test for detection of antibodies to *Sarcocystis neurona*, using serum and cerebrospinal fluid of naturally and experimentally infected, and vaccinated horses. **Journal of Parasitology**, v.90, p. 379–386, 2004.

DUARTE, P. C.; CONRAD, P. A.; WILSON, W. D.; FERRARO, G. L.; PACKHAM, A. E.; BOWERS-LEPORE, J.; CARPENTER, T. E.; GARDNER, I. A. Risk of postnatal exposure to *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in horses. **Am. Journal of Veterinary Research**, v.3, n.65, p.1047-52. 2004a.

DUARTE, P.C.; CONRAD, P.A.; BARR, B.C.; WILSON, W.D.; FERRARO, G.L.; PACKHAM, A.E.; CARPENTER, T.E.; GARDNER, I.A. Risk of Transplacental transmission of *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in California horses. **Journal of Parasitology**, v.90, n.6, p.1345–1351, 2004b.

DUBEY, J.P., DAVIS, G.W., KOESTNER, A., KIRYU, K. Equine encephalomyelitis due to a protozoan parasite resembling *Toxoplasma gondii*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.165, n.3, p.249-55, 1974.

DUBEY, J.P., MILLER, S. Equine protozoal myeloencephalitis in a pony. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.188, p.1311–1312, 1986.

DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. Isolation in immunodeficient mice of *Sarcocystis neurona* from opossum (*Didelphis virginiana*) faeces, and its differentiation from *Sarcocystis falcatula*. **Journal of Parasitology**. v. 28, p.1823–1828, 1998.

DUBEY, J.P.; DAVIS, S.W.; SPEER, C.A.; BOWMAN, D.D.; de LAHUNTA, A.; GRANSTROM, D.E.; TOPPER, M.J.; HAMIR, A.N.; CUMMINGS, J.F.; SUTER, M.M. *sarcocystis neurona* n.sp. (protozoa: apicomplexa), the etiologic agent of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Parasitology**, v.77, p.212-218, 1991.

DUBEY, J. P.; KERBER, C. E.; GRANSTROM, D. E. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses in Brazil. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.1, n.215, p.970-2, 1999a.

DUBEY, J. P.; VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L.; MCKINNEY, J.; PECORARO, M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses from Argentina. **Veterinary Parasitology**. v.86, n.1, p.59-62, 1999b.

DUBEY J.P. Prevalence of *Sarcocystis* species sporocysts in wild caught opossums (*Didelphis virginiana*). **Journal of Parasitology**, v.86, p. 705-710, 2000.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SAVILLE, W.J.A.; REED, S. M.; GRANSTROM, D. E.; SPEER, C. A. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). **Veterinary Parasitology**. v.95, n.2-4, p.89-131, 2001.

DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S., KERBER, C.E., KASAI, N., PENA, H.F.J., GENNARI, S.M., et al. First isolation of *Sarcocystis neurona* from the South American opossum, *Didelphis albiventris*, from Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.95, p.295–304, 2001.

DUBEY, J.P., HOWE, D. K.; FURR, M.; SAVILLE, W. J.; MARSH, A. E.; REED, S. M.; GRIGG, M. E. An update on *Sarcocystis neurona* infections in animals and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). **Veterinary Parasitology**. v.209, n.1-2, p.1-42, 2015.

DZIEZYC, J.; MILLICHAMP, N. J. Doenças oculares infecciosas. In: SMITH, B. P. Medicina interna de grandes animais. 3. ed. Barueri, São Paulo: Manole. cap. 37, p. 1164-1182, 2006.

EDINGTON, N.; BRIDGES, C.G.; HUCKLE, A. Experimental reactivation of equid herpesvirus 1 (EHV 1) following the administration of corticosteroids. **Equine veterinary Journal**, v.17, p. 369-372, 1985.

EHLERS, B.; DURAL, G.; YASMUM, N.; LEMBO, T.; DE THOISY, B.; RYSERDEGIORGIS, M. P.; ULRICH, R.G.; MCGEOCH, D. J. Novel mammalian herpesviruses and lineages within the Gammaherpesvirinae: cospeciation and interpecies transfer. **Journal of Virology**, v.82, n.7, p.3509-3516, 2008.

EHIZIBOLO, D.O.; GUSI, A.M.; EHIZIBOLO, P.O.; MBUK, E.U.; OCHOLI, R.A. Serologic Prevalence of Brucellosis in Horse Stables in Two Northern States of Nigeria. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 22, p.17-19, 2011.

ENRIGHT, F.M. The pathogenesis and pathobiology of Brucella infection in domestic. In: Nielsen K., Duncan J.R. (Eds) Animal brucellosis. EUA: CRC Press. p.301-320, 1990.

FERNANDES, F.S.; GRADELA, A. Brucelose em uma égua doadora de embriões: Relato de Caso. **Ciência Veterinária**, 2014 - rcvt.org.br

FENGER, C.K., GRANSTROM, D.E., GAJADHAR, A.A., WILLIAMS, N.M., MCCRILLIS, S.A., STAMPER, S., et al. Experimental induction of equine protozoal myeloencephalitis in horses using *Sarcocystis* sp. sporocysts from the opossum (*Didelphis virginiana*). **Veterinary Parasitology**. v. 68, p. 199–213, 1997.

FENGER, C.K. et al. Equine protozoal myeloencephalitis In RABINSON NE (ed); Current Terapy in Equine Medicine , 4 ed. Philadelphia, WB Saunders; 1997.

FINNO, C.J, PACKHAM, A.E, DAVID WILSON, W, GARDNER, I.A, CONRAD, P.A, PUSTERLA, N. Effects of blood contamination of cerebrospinal fluid on results of indirect fluorescent antibody tests for detection of antibodies against *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.19, n.3, p. 286-9, 2007.

FISHER, R. A. 1992. On the interpretation of χ^2 from contingency tables, and the calculation of P. J. R. **Stat. Soc. A. Stat.** v. 85, n.1, p.87–94.

FOOTE C.; LOVE, D.; GILKERSON, J.; WHALLEY, J. 'Detection of EHV-1 and EHV-4 DNA in unweaned thoroughbred foals from vaccinated mares on a large stud farm', **Equine Veterinary Journal** v. 36, p. 341–345, 2004.

FRANCO, A. C. ROEHE, P.M. Herpesviridae. In: Flores, E.F. **Virologia Veterinária**. Santa Maria, RS: Ed. EFSM. 2012. Cap. 17. p. 433-477.

FRASER, C. M. et al. Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. 7. ed. São Paulo: Roca. p.565, 1996.

GALOSI, C. M. et al. A polymerase chain reaction for detection of equine herpesvirus-1 in routine diagnostic submissions of tissues from aborted fetuses. **Journal of Veterinary Medicine B**, v. 48, n. 5, p. 341-346, 2001.

GAMA, L. Estudo comparativo de técnicas para diagnóstico sorológico da rinopneumonite equina. Dissertação (Mestrado em Microbiologia). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 94f.1992.

GARDINER, D.W.; LUNN, D.P.; GOEHRING, L.S.; CHIANG, Y.W.; COOK, C.; OSTERRIEDER, N. et al. 'Strain impact on equine herpesvirus type 1 (EHV-1) abortion models: Viral loads in fetal and placental tissues and foals', *Vaccine* 30, p.6564–6572, 2012.

GENNARI S. M.; PENA J. H. F.; LINDSAY S.D.; LOPES G.M.; SOARES S.H.; CABRAL D.A.; VITALIANO N.S.; AMAKU M. Prevalence of antibodies against *Neospora* spp. and *Sarcocystis neurona* in donkeys from northeastern Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol* 2016. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.25 n.1, 2016.

GILKERSON, J.; WHALLEY, J.; DRUMMER, H.; STUDDERT, M.; LOVE, D. 'Epidemiological studies of equine herpesvirus 1 (EHV-1) in Thoroughbred foals: A review of studies conducted in the Hunter Valley of New South Wales between 1995 and 1997', **Veterinary Microbiology** , v.68, p.15–25, 1999.

GILKERSON, J.R. Equine herpesvírus neurological disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 40, n. 2, p. 102-103, 2008.

GIRARD, A.; GREIG, A.S.; MITCHELL, D. Equine virus abortion in Canada II. Isolations of viruses and detection of antibodies in tissue culture. **Cornell Veterinary**, n.53, p.88-98, 1963.

GODOY, A.M.; BARG, L. Aspectos ecológicos da infecção brucélica 2 – Investigação sorológica em cavalos de corrida. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, UFMG, v.28, p.121-123, 1976.

GODFROID, J. et al. Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21st century. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 102, p. 118–131, 2011.

GONZÁLEZ, R.A.; GONZÁLES-REYES I.; Flores-Gutiérrez GH. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in equines of a tropical region of México. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.70, p.302-304, 2006.

GÖZ Y., BABÜR C., AYDIN A. et al. Seroprevalence of toxoplasmosis, brucellosis and listeriosis in horses in Hakkari, eastern region of Turkey. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.158, p.534-539, 2007.

GRANSTROM, D.E, DUBEY, J.P, DAVIS, S.W, FAYER, R, FOX, J.C, POONACHA, K.B, et al. Equine protozoal myeloencephalitis: antigen analysis of cultured *Sarcocystis neurona* merozoites. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**; v.5, n.1, p.88-90, 1993.

GRIBEL, R. Visits of *Caluromys lanatus* (Didelphidae) to flowers of *Pseudobombax tomentosum* (Bombacaceae): a probable case of pollination by marsupials in central Brazil. **Biotropica**, v.20, p. 344-347, 1988.

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.

HINTON, M.; BARKER, G.L.; MORGAN, T.L.A. Abortion in a mare associated with *Brucella abortus* infection and twins. **Veterinary Record**, v.101, p.526, 1977.

HIPÓLITO, O.; SOUZA, R.; GIÓVINE, N. Brucelose e sêro-aglutinação em Minas Gerais. *Arquivos da Escola Superior de Veterinária do Estado de Minas Gerais*, v. 1, p. 31-34, 1943.

HIRSH, D. C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: *Guanabara Koogan*, 2003.

HOANE, J.S., GENNARI, S.M., DUBEY, J.P, RIBEIRO, M.G, BORGES, A.S, YAILE, L.E, AGUIAR, D.M, CAVALCANTE, G.T, BONESI, G.L, HOWE, D.K.

Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. **Veterinary Parasitology**. v.15; n.136, p.155-9, 2006.

HOSMER JR., D. W.; LEMESHOW, S. Applied logistic regression. Second Edition, New York: John Wiley & Sons, p. 375, 2000.

HUDDLESTON, I. Brucellosis in Man and Animals. The Commonwealth Fund New York.1943.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, v. 44, p.1-51, 2016.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. Disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/geratabela?name=Tabela%20...%20Bahia>. Acessado em: 20 Janeiro de 2017.

ICTV Ninth Report; 2009 Taxonomy Release. Acessado em: https://talk.ictvonline.org/ictvreports/ictv_9th_report/dsdnaviruses2011/w/dsdna_viruses/91/herpesviridae,20/01/2020.

JOHNSON, A.L.; MORROW, J.K., SWEENEY, R.W. Indirect fluorescent antibody test and surface antigen ELISAs for antemortem diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**., v.27, n.3, p.596-9, 2013.

JUNQUEIRA, et al. Brucellosis in working equines of cattle farms from Minas Gerais State, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.121, p. 380 -385, 2015.

JUNQUEIRA, Jr., D.G. Soroprevalência da brucelose em equídeos de serviço, o em Minas Gerais, 2003–2004. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.2012.

KLEIBOEKER, S. B.; TURNQUIST, S. E.; JOHNSON, P. J.; KREEGER, J. M. Detection and Nucleotides Sequencing of a DNA-Packaging Protein Gene of Equine Gammaherpesviruses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.16, n.1, p.67-74, 2004.

KING, A.M.Q.; ADAMS, M.J.; CARTENS, E.B.; LEFKOWITZ, E. J. Virus taxonomy: ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. San Diego, Califórnia: **Elsevier**, 2011.

KOTAIT, I.; PEIXOTO, Z. M. P.; QUEIROZ, L. H.; CUNHA, E. M. S.; SOUZA, M. C. A. M.; MACRUZ, R.; FREITAS, C. A. Diagnóstico laboratorial do aborto equino a vírus através de imunofluorescência e soroneutralização. **Revista de Microbiologia**, v. 20, n. 1, p. 128-132, 1989.

KOTAIT, I. Herpesvírus equino tipo 1: Incidência e diagnóstico laboratorial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.1, p.164-171, 1991.

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.

LAGE, A. P.; POESTER, F. P.; PAIXÃO, T. A.; SILVA, T. A.; XAVIER, M. N.; MINHARRO, S.; MIRANDA, K. L.; ALVES, C. M.; MOL, J. P. S.; SANTOS, R. L. Brucelose bovina: uma atualização. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 32, p. 202-212, 2008.

LANGONI, H.; SILVA, A. V. Comportamento sorológico de aglutininas anti-Brucella em soro de equídeos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 19, n 2, p.85-87,1997.

LANGENEGGER, J.; SZECHY, A.M. Brucelose dos equídeos domésticos - isolamento de *Brucella abortus* de bursites de cernelha no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico Animal**, v.4, p. 49-63, 1961.

LANGONI, H.; SILVA, A. V. Comportamento sorológico de aglutininas anti-brucela em soro de equídeos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 85-87, 1997.

LAM K. K. H, WATKINS K. L, CHAN C. W. First report of equine protozoal myeloencephalitis in Hong Kong. **Equine Veterinary Education**, v.11, p. 54-56, 1999.

LARA, M. C. C. S. H.; BARROS FILHO, I.; VIANA, F.; *et al.* Pesquisa de anticorpos contra o vírus da artrite dos eqüinos (VAE) e herpes eqüino tipo 1 (HVE-1) em cavalos criados em Curitiba, PR. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 23, n. 135, p. 26-28, 2003.a.

LARA, M. C. C. S. H.; CUNHA, E. M. S.; NASSARI, A. F. C.; GREGORY, L; BIRGEL, E. H.; FERNANDES, W. R. Ocorrência do herpesvírus equino 1 (HVE-1) em cavalos criados no estado de São Paulo, Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v. 19, n. 3, p. 254-259, 2003.b.

LARA, M.C.C.S.; FURMAN, K.E.; BARROS FILHO, I.R. *et al.* Detection of antibodies against equine viral arteritis vírus (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.

LARA, M. C. C. S. H.; CUNHA, E. M. S.; VILLALOBOS, E. M. C.; NASSAR, A. F. C.; ASANO, K. M.; FERNANDES, W. R.; RICHTZENHAIN, L. J.; BRANDÃO, P. E.; MORI, E. Isolation of Equid Herpesvirus Type 1 associated with neurological disease in horses: a case report in Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 221-224, 2008.

LARA, M.C.C.S.H.; TORELLI, C.S.; CUNHA, E.M.S. et al. Inquérito sorológico da infecção por herpesvírus equino no Estado de Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.47, n.5, p.352-356, 2010.

LAWRENCE, G.L.; GILKERSON, J.; LOVE, D.N.; SABINE, M.; WHALLEY, J.M. Rapid single-step differentiation of equid herpesviruses 1 and 4 from clinical material using the polymerase chain reaction and virus-specific primers. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v.47, n.1-2, p.59-72, 1994.

LIMA, R. A. S. & CINTRA, A. G. Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, p. 1-56, 2016.

LINDSAY, D.S., MITVHELL, S.M., YANG, J, DUBEY, J.P., GOGAL Junior R.M., WITONSKY, S.G., Penetration of equine leukocytes by merozoites of *Sarcocystis neurona*. **Veterinary Parasitology**.v.138, p. 371-6, 2006.

LINS, A.L.; JUNIOR, F.F.; BERNE, A.M.E.; NOGUEIRA C. E. W. Equine protozoal myeloencephalitis in horses from Bagé, southern Brazil. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. V.103, n.567-568, p.177-180, 2008.

LINS, L. A.; FEIJÓ, L. S.; NOGUEIRA, C. E. W.; Mieloencefalite protozoária equina nas regiões da Campanha e do sul do Rio Grande do Sul no período de 1998-2006. **Revista Ciência Agronômica**. v.11, n.3, p.248-250, 2012.

LOPES, C. W. G. O gênero *Sarcocystis* (Lankester, 1882) (Apicomplexa: Sarcocystidae), uma questão a ser reavaliada no Brasil. XIII Congr. Bras. Parasit. Vet. Ouro Preto, MG, v.13, n.1, 2004.

LUCERO, N.E.; AYALA, S.M.; ESCOBAR, G.I. et al. Brucella isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. **Epidemiology and Infection**. v.136, p.496-503, 2008.

LUNN, D.P.; DAVIS-POYNTER, N.; FLAMINIO, M.J.; HOROHOV, D.W.; OSTERRIEDER, K.; PUSTERLA, N.; TOWNSEMD, H.G. Equine herpesvirus-1 consensus statement. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.23, p. 450–461, 2009.

MANNINGER, R.; CSONTOS, J. Virusabortus der Stuten. Deutsche Tierärztlich Wochenschrift, v. 49, p. 105- 108, 1941.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2014. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br>. Acesso em: 18 março de 2017.

MASCARENHAS, G. C. C. Análise de alguns fatores relevantes a oferta de cacau baiano no período de 1967 a 1993. 1993. 58p. Monografia (Especialização) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus.

MATHIAS, L. A.; COSTA, M. Brucelose bovina e eqüina. In: CORREA, F. R. et al. Doenças de ruminantes e eqüídeos. 3. ed. Santa Maria: Pallotti. Vol. I, cap. 3, p. 225-240, 2007.

MAYHEW I. G, GREINER E.C. Protozoal diseases. Veterinary Clinics of North America: **Equine Practice**, v.2, p.439-459, 1986.

MACKAY, R. Mieloencefalopatia Protozoária Eqüina. In: Allen, D. G. et al. Manual Merck de Veterinária. 8 ed. São Paulo: Editora Roca, p. 771- 772, 2001.

MACMILLAN, A.P.; BASKERVILLE, A.; HAMBLETON, P. et al. Experimental Brucella abortus infection in the horse: observations during the three months following inoculation. **Research in Veterinary Science**. v.33, p.351-359, 1982.

MCCAUGHEY, W. J.; KERR, W. R. Abortion due to Brucella in thoroughbred mare. **Veterinary Record**. v. 80, p. 186-189, 1967.

MENEZES R.C.A.A. Epidemiologia da Eimeria Arloing (MAROTEL, 1905) MARTAN, 1909 (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) na microrregião serrana fluminense, estado do Rio de Janeiro. Tese de Mestrado, UFRRJ, Seropédica, RJ, p.57, 1994.

MINSON, A. C.; DAVISON, A.; EBERLE, R.; DESROSIERS, R. C.; FLECKENSTEIN, B.; MCGEOCH, D.J.; PELLET, P.E.; ROIZMAN, B.; STUDDERT, D.M.J. Family Herpesviridae. In: VAN REGENMORTEL, M. H.V.; FAUQUOT, C.M.; BISHOP, D. H. L.; CARSTENS, E.B.; ESTES, M.K.; LEMON, S. M.; MANILOFF, J.; MAYO, M.A.; MCGEOCH, D. J.; PRINGLE, C.R.; WICKNER, R.B. Virus taxonomy: the classification and nomenclature of viroses: the seventh report of the international committee on taxonomy of viruses, San Diego: Academic Press, p.203-225, 2000.

MORÉ, G.A. Mieloencefalitis equina por protozoos. **Revista de medicina veterinaria (Buenos Aires)**. v.92, n.5-6, p.95 – 104, 2011.

MORÉ, G., VISSANI, A., PARDINI, L., MONINA, M., MURIEL, M., HOWE, D., BARRAN-DEGUY, M., VENTURINI, M.C., Seroprevalence of *Sarcocystis neurona* and its association with neurologic disorders in Argentinean horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.34, n.9, p.1051-1054, 2014.

MOREIRA, N.; WEISS, R. R.; KRUGER, E. R. Frequência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus equino tipo 1. **Scientia Agraria**, v. 1, n. 1-2, p. 9-14, 2000.

MOREIRA, F.M. Manifestação Neurológica por herpesvirus equino tipo 1: Relato de Caso. Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2012.

MORI, E. Infecção experimental em cavalos pelo herpesvírus equino tipo 1: aspectos clínicos e detecção do agente pela reação em cadeia pela polimerase. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 160f. 2005.

MORI, C.M.C.; MORI, E.; FAVARO, L.L et al. Equid herpesvirus type-1 exhibits neurotropism and neurovirulence in a mouse model. **Journal of Comparative Pathology**, v.146, n.2-3, p.202-210, 2012.

MORLEY, P. S.; TRAUB-DARGATZ, J. L.; BENEDICT, K. M.; SAVILLE, W. J. A.; VOELKER, L. D.; WAGNER, B. A. Risk factors for owner-reported occurrence of equine protozoal myeloencephalitis in the US equine population. **Journal of Veterinary Internal Medicine.**, v.22, n.3, p.616-629, 2008.

MUMFORD, J. A. Equid herpesvirus 1 and 4 infections. In: COETZER, J.A.W; THOMSOM, G.R.; TUSTIN, R.C. Infectious diseases of livestock. Oxford: Oxford University Press, v.2, p.911-925, 1994.

MUMFORD, J. A.; EDINGTON, N. EHV-1 and equine paresis. **Veterinary Record**, v. 106, n. 12, p. 277, 1980.

MURPHY, F.A. **Veterinary virology**. 3.ed. San Diego: *Academic*, p. 303-463, 1999.

NETA, A. V. C.; MOL, J. P. S.; XAVIER, M. N.; PAIXAO, T. A.; LAGE, A. P.; SANTOS, R. L. Pathogenesis of bovine brucellosis. **The Veterinary Journal, London**, v. 184, n. 2; p. 146-155, 2009.

NICOLETTI, P.L.; MAHLER, J.R.; SCARRATT, W.K. Study of agglutinins to *Brucella abortus*, *B.canis* and *Actinobacillus equuli* in horses. **Equine Veterinary Journal**. v.14, p.302-304, 1982.

NIELSEN, K, DUNCAN, JR. Animal brucellosis. USA: CRC Press, p.453,1990.

NIELSEN, K. A brief review of diagnosis of bovine brucellosis by detection of antibody. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.27, p.9- 17, 1995.

NIELSEN, K. Diagnosis of brucellosis by sorology. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.90, p.447-459, 2002.

NIELSEN, K, GALL, D, SMITH, P, KELLY, W, YEO, J, KENNY, K, et al. Fluorescence polarization assay for the diagnosis of bovine brucellosis: adaptation to field use. **Veterinary Microbiology**, v.21, p.163-170, 2001.

NIELSEN, K, SMITH, P, WIDDISON, J, GALL, D, KELLY, L, KELLY, W, NICOLLETTI, P. Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7. **Veterinary Microbiology**, v.100, p.25-30, 2004.

NORONHA, L.E.; ANTCZAK, D. F. Modulation of T- cell reactivity during equine pregnancy is antigen independente. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.68, p.107-15, 2012.

NUGENT, J.; BURCH-MACHIN, I.; SMITH, K. C.; MUMFORD, J. A.; SWANN, Z.; NEWTON, J. R.; BOWDEN, R. J.; ALLEN, G. P.; DAVIS-POYNTER, N. Analysis of equid herpesvirus 1 strain variation reveals a point mutation of the DNA polymerase strongly associated with neuropathogenic versus nonneuropathogenic disease outbreaks. **Journal of Virology**, v. 80, n. 8, p. 4047-4060, 2006.

NUGENT, J.; PAILLOT, R. Equine herpesvírus myeloencephalopathy: Unravelling the enigma. **Veterinary Journal**, v. 180, p. 271-272, 2009.

OCHOLI, R. A. et al. Carpal bursitis associated with *Brucella abortus* in a horse in Nigeria. **Veterinary Record**, v. 155, p. 566-567, 2004.

OFFICE INTERNACIONAL DES EPIZOOTIES. Código zoosanitário internacional. Enfermidades dos bovinos da lista B. Recomendações aplicáveis às enfermidades específicas. Disponível em: <<http://www.oie.int.htm>>. Acesso em: 10 de dezembro de 2002.

OLADUNNI, F.S.; HOROHOV, D.W.; CHAMBERS, T.M. EHV-1: A constant threat to the horse industry. **Frontiers in Microbiology**. v.10, p. 2668, 2019.

OLIVEIRA, Q.C.; MOREIRA, V.S.; LIMA, C.S. Brucelose em equinos. **Revista de Medicina Veterinaria**, v.9, p.93-106, 1973.

OSTERIEDER, N.; VAN DE WALLE, G.R. Pathogenic potential of equine alphaherpesviruses: the importance of the mononuclear cell compartment in disease outcome. **Veterinary Microbiology**, v.143, n.1, p.21-28, 2010.

OSTLUND EN. The equine herpesviruses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. v.9, n.2, p. 283-294, 1993.

PAILLOT, R.; CASE, R.; ROSS, J.; NEWTON, R.; NUGENT, L. Equine herpesvirus 1: Virus, Immunoty anda Vaccines. *The Open Veterinary Science Journal*, v.2, n.2, p.68-91, 2008.

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.

PASCOE, R.R.; SPRADRBROW, P.B.; BAGUST, T.J. An equine genital infection resembling coital exanthema associated whit a virus. **Australian Veterinary Journal**, v.45, p.166-170, 1969.

PATEL, J.R. & HELDENS, J. Equine herpesvíruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review. **Veterinary Journal**. v.170, n.1, p.14-23, 2005.

PAULIN, L.M. Brucelose. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.70, n.2, p. 239-249, 2003.

PEARSON, K. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can reasonably be supposed to have arisen from random sampling, *Philosophical Magazine*, v.5, p.157-175, 1900.

PENA, L.J.; PENA, D.A; BARROS, P.R.; DALE, R.; LAMEGO, M.R.A.; MORAES, M.P.; Levantamento soro-epidemiológico da infecção pelo vírus da Anemia Infeciosa Equina, da Influenza Equina-2 e do Herpesvirus Equino-1 em rebanhos do sul do Estado do Pará, Brasil. ***Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science***, v. 43, n.4, p.537-542, 2006.

PIVOTO, F.L., DE MACÊDO JUNIOR, A.G.; SILVA, M.V.; FERREIRA, F.B.; SILVA, D.A.O.; POMPERMAYER, E.; SANGIONI, L.A.; MINEO, T.W.P.; VOGEL, F.S.F. Serological status of mares in parturition and the levels of anti-bodies (IgG) against protozoan family Sarcocystidae from their precolostral foals. ***Veterinary Parasitology***, v.199, p. 107–111, 2014.

PORTUGAL, M.A.S.C.; NESTI, A.; GIORGI, W.; FRANÇA, E.N.; OLIVEIRA, B.S. Brucelose em equinos determinada por *Brucella suis*. ***Arquivos do Instituto Biológico***, v.38, n.3. p.125-132, 1971.

PRONOST, S.; LEGRAND, L.; PITEL, P.H.; WEGGE, B.; LISSENS, J.; FREYMUTH, F.; RICHARD, E.; FORTIER, G. Outbreak of equine herpesvirus myeloencephalopathy in France: A clinical and molecular investigation. *Transbound. Emerg.* v.59, p. 256–263, 2012.

PUSTERLA, N., TAMEZ-TREVINO, E., WHITE, A., VAN GEEM, J., PACKHAM, A., CONRAD, P.A., KASS, P. Comparison of prevalence factors in horses with and without seropositivity to *Neospora hughesi* and/or *Sarcocystis neurona*. ***Veterinary Journal***, v.200, n.2, p.332-334, 2014a.

PUSTERLA, N.; MACKIE, S.; PACKHAM, A.; CONRAD, P. A. Serological investigation of transplacental infection with *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* in broodmares. ***Veterinary Journal***, v.202, n.3, p.649-50, 2014b.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2015.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C. et al. *Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 9. ed. London: W.B. Saunders, p.867-891, 2000.

RADOSTITS, M.; GAY, C.; BLOOD, C.; HINCHCLIFF, W. Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Eqüinos. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1187 -1189, 2002.

RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. et al. (Eds). Veterinary Medicine. A text book of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. EUA: Saunders. p.963-994, 2007.

REED, M.; BAYLY, M.: Medicina Interna Eqüina, 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 419, 2000.

REED, S.M. & TORIBIO, R.E. 2004. Equine herpesvirus 1 and 4. The Veterinary clinics of North America. **Equine practice**. v. 20, p.631–642, 2004.

REFAI, M. Incidence and control of brucellosis in the Near East region. **Veterinary Microbiology**, v.90, p.81-110, 2002.

REGO, E.B. MEP (mieloencefalite protozoária eqüina - um dos causadores de bambeira). <http://www.cavalo.com.br/conteudo.asp?id=31&area=3>. Acesso em 23/07/2006.

REINER, U. R.; DE LUCCA NETO, D.; NILSSON, M. R.; NILSSON, T. T.; KOTAIT, I. Isolamento do vírus do aborto equino em Campinas, Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 13., 1972, Brasília. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, p. 283-284, 1972.

RIBEIRO, M.G, NARDI, J. G, MEGID, J, PAES, A.C, LISTON, F.J.P. Anti-Brucella abortus agglutinins in serum and secretion of fistulous withers in horses. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, p.99-101, 2003.

RIBEIRO, M.G.; MOTTA, R.G.; ALMEIDA, C.A.S. Brucelose equina: aspectos da doença no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, p.83-92, 2008.

RIBEIRO J.M.M.; ROSA F.H.M.; BRUHN P.R.F.; GARCIA M.A.; ROCHA M.B.M.C.C.; GUIMARÃES M.A. Seroepidemiology of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. among horses in the south of the state of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.25, n.2, 2016.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.N.; MENDEZ, M.C. Doenças de ruminantes e eqüinos Pelotas. Ed Universitaria/UFPEL. p.651,1998.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C.; LEMOS, R.; Doenças de ruminantes e eqüinos. São Paulo: Livraria. Varela. v.2, p. 574, 2001.

RIET- CORRÊA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; LEMOS, R. Doenças de ruminantes e eqüinos.2.ed. São Paulo: Varela, p.187-197, 2003.

ROBERTSON, F.J.; MILNE, J.; SILVER, C.L.; CLARK, H.; Abortion associated with *Brucella abortus* (biotype1) in mare. **Veterinary Record**, v.92, p.480-481, 1973.

ROMÃO, R.; BETTENCOURT, E.; BRANCO, S.; FEVEREIRO, M.; FIALHO, L. Descrição de um caso de encefalopatia equina por herpes vírus 4 (EHV-4) no Alentejo. III Congresso da Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias, pp. 102. Estação Zootécnica Nacional. Vale de Santarém, Portugal. 2005.

RONEN N. Putative equine protozoal myeloencephalitis in an imported Arabian filly. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.63, p.78-79, 1992.

ROONEY, J.R.; PRICKETT, M.E.; DELANEY, F.M.; CROWE, F.W. Focal myelitisencephalitis in horses. **Cornell Veterinarian**, v.50, p. 494-501, 1970.

ROSA, I., GONZALES, A., REYES, G.I., GUTIERREZ, F.H.G. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in equines of a tropical region of México. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.70, p.302-304, 2006.

ROSSANO, M.G., KANEENE, J.B., MARTENIUK, J.V., BANKS, B.D., SCHOTT II, H.C., MANSFIELD, L.S. The seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in Michigan equids. **Preventive Veterinary Medicine.**, v.48, p. 113-128, 2001.

ROXO, E.; BERSANO, J.G.; PORTUGAL, M.A.S.C. *Brucella suis* em diversas espécies de animais numa mesma propriedade rural. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.63, n.1, p.11-14, 1996.

SANTELLANO, E, INFANTE, F, DÍAS, A. E, FLORES, G.G.H. Use of a immunobinding test on nitrocellulose paper to diagnose caprine brucellosis. **Veterinary Research Communications**, v.28, p.27-31, 2004.

SANTORI, R.T.; DE MORAES, D.A. & CERQUEIRA, R. Diet composition of *Metachirus nudicaudatus* and *Didelphis aurita* (Marsupialia, Didelphoidea) in southeastern Brazil. **Mammalia**, v.59, p. 511-516, 1995.

SANTORI, R.T.; DEMORAES, D.A.; GRELE, C.E.V. & CERQUEIRA, R. Natural diet at a Restinga forest and laboratory food preferences of the opossum *Philander frenata* in Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, v.32, p.12-16, 1997.

SANTORI, R.T. & ASTÚA DE MORAES, D. Alimentação, nutrição e adaptações alimentares de marsupiais brasileiros. Pp. 241-254. In: Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução. E.L.A. MONTEIRO-FILHO & N.T. CÁCERES (eds.). Editora UFMS, Campo Grande, Brazil. 2006.

SAVILLE, W.J., REED, S.M., GRANSTROM, D.E., HINCHCLIFF, K.W., KOHN, C.W., WITTUM T.E., STAMPER, S. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis*

neurona in horses residing in Ohio. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.210, p.519-524, 1997.

SAVILLE, W. J., S. M. REED, AND P. MORELY. Analysis of risk factors for the development of equine protozoal myeloencephalitis in horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, p. 1174–1180, 2000.

SILVA, D. P. et al. Mieloencefalite protozoária equina: revisão de literatura. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, v. 9, n.28-29, p. 34-40, 2003.

SILVA, L.A.F.; ACYPRESTE, C.S.; EURIDES, D. et al. Soroprevalência de brucelose em equinos com bursite cervical. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**. v.4, p.19-23, 2001.

SILVA, L.A.F.; BARBOSA, V.T.; SOARES L.S. et al. Brucelose em eqüino portador de bursite fistulosa de cernelha – relato de caso. *Veterinária Notícias*. v. 12, p. 38, 2006.

SIMPSON, C.F.; MAYHEW, I.G. Evidence for sarcocystis as the etiologic agent of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Protozoology**, v.27, p.288-292, 1980.

SLATER, J. Equine herpesviruses. In: SELTON, D.C.; LONG, M.T. Equine infectious diseases. Canada: Saunders; Elsevier, p.134-153, 2007.

SMITH, B.P. Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais. 2 vol. Ed..Manole, São Paulo, p.1738, 1994.

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 v.21, p.72, 1997.

STELMANN, u.j.p; AMORIM, r.m. Mieloencefalite protozoária equina. *Revista Veterinária e Zootecnia*, Botucatu/SP. Publicação científica... p.14, 2010.

STELMANN, U. J. P. Fatores associados à infecção por *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp. e *Toxoplasma gondii* em equinos da microrregião serrana do estado do Rio de Janeiro. Tese (Dout. Ciênc. Tec. Inov. Agr.) UFFRJ, p. 119, 2014.

TAHAMTAN, Y. et al. Prevalence of Brucellosis in Horse North- East of Iran. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 30, n. 7, p. 376-377, 2010.

TEIXEIRA, A.C.; NOGUEIRA, L.K.; CHIOLDI, L.C.C.; PIVETA, M.R.; CARVALHO, R.J.M.P.; GOMIERO, R.L.S.; ZULPO, D.L. Mieloencefalite equina por

protozoário (MEP): Revisão de Literatura equina. Revista Científica de Medicina Veterinária. Ano XIV - Número 28 – Janeiro de 2017.

THOMASSIAN, A. *Enfermidades dos cavalos*. São Paulo: editora: Varela, p. 451-474. 2005.

THOMASSIAN, A. *Enfermidades dos cavalos*. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela. p.573, 2005.

TILLOTSON, K., MCCUE, P.M., GRANSTROM, D.E., DARGATZ, D.A., SMITH, M.O., TRAUB-DARGATZ, J.L. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in northern Colorado. **Journal of Equine Veterinary Science.**, v.19, p. 122-126, 1999.

VALENÇA, S.R.F.A.; ANDRADE, M.R.; MORÉ, G.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; JÚNIOR, J.W.P.; MOTA; R.A. Low prevalence of infection by *Sarcocystis neurona* in horses from the State of Alagoas, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, n. 2, p. 298-302, 2019.

VAN GALEN, G.; LEBLOND, A.; TRITZ, P.; MARTINELLE, L.; PRONOST, S.; SAEGERMAN, C. A retrospective study on equine herpesvirus type-1 associated myeloencephalopathy in France (2008–2011). **Veterinary Microbiology**. v.179, p.304–309. 2015.

VARDELEON, D.; MARSH, A. E.; THORNE, J. G.; LOCH, W.; YOUNG, R.; JOHNSON, P. J. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. **Veterinary Parasitology**, v.95, n.2-4, p.273-78, 2001.

VASCONCELLOS, S.A.; ITO, F.H.; CÔRTEZ, J.A. Bases para a prevenção da brucelose animal. *Comum Cient Fac Med Vet Zootec USP*, v.1, p.25-36, 1987.

VASCONCELLOS, L. A. S.; *Problemas Neurológicos na Clínica Equina*, 1ª Edição Editora Varela, São Paulo, p. 33-36. 1995.

VIEIRA, E.M. & ASTÚA DE MORAES, D. 2003. Carnivory and insectivory in neotropical marsupials. Pp. 271-284. In: M. JONES; C. DICKMAN & M. ARCHERS (eds). *Predators with pouches: the biology of carnivorous marsupials*. Collingwood, CSIRO Publishing. ALÉSSIO, et al., 2005.

VISSANI, M.A.; BECERRA, M.L.; OLGUIN PERGLIONE, C.; TORDOYA, M.S.; MINO, S.; BARRANDEGUY, M. Neuropathogenic and non-neuropathogenic genotypes of Equid Herpesvirus type 1 in Argentina. **Veterinary Microbiology**. v.139, p.361–364, 2009.

WADOOD, F. et al. Seroprevalence of brucellosis in horse in and around Faisalabad. **Pakistan veterinary Journal**, V. 29, n 4, p. 196-198, 2009.

WEIBLEN, R.; RABUSKE, M.; REBELATTO, M. C.; NOBRE, V. M. T.; CANABARRO, T. F. Abortion due to equine herpesvirus in southern Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 27, p. 1317-1320, 1994.

WILSON, W.D.; PUSTERLA, N. Equine Herpesvirus 1 Myeloencephalopathy, p. 617-628, 2004. IN: REED, S.M.; BAYLY, W.M.; SELLON, D.C. **Equine Internal Medicine**, 2. Ed., Saunders, p.1659, 2004.

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.

YEARGAN, M. R., ALVARADO-ESQUIVEL, C., DUBEY, J. P., HOWE, D. K. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in horses from Mexico. *Parasit.* v.1, n.1, p..20-29, 2013.

ZICKER, S. C. Fístula de cernelha. In: SMITH, B. P. *Medicina interna de grandes animais*. 3. ed. Barueri: Manole. cap. 36, p. 1132-1133. 2006.

ANEXOS

ANEXO A

- Protocolo do teste de Soroneutralização Viral

Execução da Técnica:

- Os soros foram descongelados e inativados em banho-maria a 56 °C durante 30 minutos.
- Confeção dos mapas para localização dos soros nas placas de cultivo celular.
- Uso de placas para microtitulação, de poliestireno, medindo 12,7x 95mm e com 96 orifícios de fundo plano.
- Com o auxílio de um gotejador foram colocadas 50 µL de meio em cada poço das placas.
- Numeração das placas.
- Diluição dos soros, através da utilização de uma micropipeta de volume fixo de 50 µL.
- Adicionar o soro na placa e homogeneizar por 5 (cinco) vezes consecutivas, trabalhando com a placa inclinada em 45° com relação à horizontal.
- Diluições do soro 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64 e assim sucessivamente.
- Colocação da suspensão de vírus (previamente titulado e contendo 100 TCID₅₀): 50 µL em cada poço das placas.
- Incubação em estufa comum a 37 °C durante 1 hora.
- Colocação da suspensão de células: 100 µL em cada poço das placas, através da utilização de células da linhagem MDBK, na quantidade de 38.000 células por placa.
- Incubação em estufa de CO₂, a 37 °C, com 5,0% de CO₂.
- Leitura final após 72 horas.

ANEXO B

- Protocolo da Reação de Imunofluorescência - RIFI para detecção de anticorpos IgG anti- *S. neurona*.

Preparo das Lâminas:

- Adicionar 10 µL do antígeno em cada poço da lâmina.
- Secar em estufa à 37°C, por aproximadamente 30 minutos.
- Fixar em metanol por 5 minutos.
- Acondicionar em lenço de papel e papel de alumínio, armazenando à -20° C, até o momento do uso.

Execução da técnica de RIFI:

- Lavar as lâminas em PBS por 5 minutos.
- Secar as lâminas em temperatura ambiente ou estufa a 37°C (tempo = até secar).
- Diluir o soro, segundo seu ponto de corte (1:80).
- Adicionar 10 µL da diluição das amostras de soro.
- Adicionar 10 µL dos soros controles positivo e negativo.
- Incubar a 37°C por 30 minutos, em câmara úmida.
- Lavar as lâminas duas vezes com PBS por 5 minutos.
- Secar as lâminas a temperatura ambiente.
- Diluir o conjugado com FITC (isotiocianato de fluoresceína) 1:600 em solução de PBS-Azul de Evans (0,5%).
- Adicionar 10 µL do conjugado diluído em cada poço e proteger da luz.
- Incubar a 37°C por 30 minutos, em câmara úmida, sempre protegendo da luz.
- Lavar as lâminas duas vezes com PBS por 5 minutos (protegendo da luz).
- Secar as lâminas a temperatura ambiente.
- Adicionar uma gota de glicerina entre os poços e cobrir com lamínula.
- Fazer a leitura em objetiva de 40x no microscópio de epifluorescência.

ANEXO C

- Protocolo do teste de antígeno acidificado tamponado (AAT).

Execução da Técnica:

- Equilibrar os soros e o antígeno à temperatura ambiente, por, pelo menos, 30 minutos.
- Homogeneizar os soros antes de realizar a prova.
- Utilizar o micropipetador ou a pipeta de Bang dotada de uma pêra de borracha.
- Depositar 30 μ L sobre a placa de vidro, encostando nela a ponta da pipeta em ângulo de 45°.
- Agitar suavemente o antígeno e colocar uma gota (30 μ L) ao lado do soro, sem ser nele misturado.
- Misturar, por meio de misturador simples ou múltiplo, o soro e o antígeno com movimentos circulares, de modo a obter um círculo aproximado de 2 cm.
- Agitar a placa com movimentos oscilatórios, numa frequência de, aproximadamente, 30 movimentos por minuto, de modo a permitir que a mistura soro-antígeno flua lentamente dentro de cada círculo.
- A placa deve ser agitada continuamente por 4 minutos.
- Colocar a placa na caixa de leitura com luz indireta.
- Realizar a leitura.

ANEXO D

- Protocolo do teste de Soroaglutinação Lenta em Tubos (SAL) e 2-Mercaptoetanol (2-ME).

Execução da Técnica:

- Diluir o antígeno para SAL em tubos 100 (cem) vezes em solução salina a 0,85% contendo 0,5% de fenol. Concentração final 0,045%.
- Diluir o antígeno para a prova de 2-ME em tubos 50 (cinquenta) vezes em solução salina 0,85% sem adição de fenol. Concentração final 0,090%.
- Preparar solução de 2-ME a 0,1M misturando-se 7,8 mL de 2-ME a 992,20 mL de solução salina a 0,85% sem fenol, ou volumes menores, proporcionalmente.
- Para cada amostra de soro a testar, colocar em uma estante, duas fileiras de quatro tubos.
- Identificar o primeiro tubo de cada fileira com o número correspondente ao soro a testar.
- A primeira fileira corresponde às quatro diluições do soro do SAL e deve ser marcada com a letra T. A outra fileira, em que se fará o teste do 2-ME, deve ser marcada com a letra M.
- Com uma pipeta de Bang, dotada de pêra de borracha, ou outro dispositivo de pipetagem.
- Com um papel absorvente, limpa-se o extremo da pipeta; mantendo-se está em posição vertical sobre a parede do tubo que contém a amostra, deixa-se escorrer o soro até que o fundo do menisco no interior da pipeta esteja nivelado com a sua graduação superior.
- Com a pipeta no fundo do primeiro tubo da primeira fileira, deixa-se fluir 0,08 mL de soro.
- No segundo tubo, deposita-se 0,04 mL, no terceiro, 0,02 mL, no quarto 0,01 mL.
- Repete-se o procedimento descrito para depositar as mesmas quantidades de soro na segunda fileira de tubos (série do 2-ME).
- Para todas as amostras de soro, repete-se o procedimento de forma

similar, pipetando os soros para cada duas fileiras de tubos adequadamente identificados.

- Incluir os soros controle positivos com atividade aglutinante conhecida.
- Incluir o soro controle negativo na prova do 2-ME.
- Com o dispensador automático de 2 mL ou pipeta de 10mL, agrega-se a cada um dos quatro tubos das fileiras T, 2 mL do antígeno diluído 1:100 (0,045% de células) em solução salina fenicada.
- Com o dispensador automático de 2 mL (regulado para 1 mL), ou pipeta de 10 mL, agrega-se 1 mL de solução de 2-ME 0,1M (diluído em solução salina sem fenol) a cada um dos tubos das fileiras M.
- Mistura-se bem, agitando a estante.
- Deixar as estantes com as amostras em repouso durante 30 (trinta) minutos à temperatura ambiente.
- Após os 30 (trinta) min, empregando-se outro dispensador automático, ou outra pipeta de 10mL, agrega-se a cada tubo da fileira M, 1 mL do antígeno diluído 1:50 (0,09 % de células) em solução salina (sem fenol).
- Mistura-se bem, agitando-se a estante.
- Incubar a 37°C (trinta e sete graus Celsius) por 48h + 3 h.
- Realizar a leitura da prova por meio de uma fonte de luz indireta contra um fundo escuro e opaco, com uma forte luz que atravesse os tubos.
- As interpretações baseiam-se no grau de turvação dos tubos e na firmeza dos grumos, após agitação suave dos tubos (aglutinação do antígeno).

ANEXO E

- Instruções aos autores para a submissão de trabalhos na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária – Brazilian Journal of Veterinary Parasitology.

Apresentação dos manuscritos

Na elaboração do texto serão observadas as seguintes normas:

Os trabalhos devem ser submetidos em inglês, de forma concisa, com linguagem impessoal e com os sinais de chamadas de rodapé em números arábicos, lançados ao pé da página em que estiver o respectivo número e em ordem crescente. Os trabalhos deverão ser apresentados em fonte “Times New Roman”, tamanho 12, com margem superior e inferior de 2,5 cm, esquerda e direita com 3 cm e espaçamento entre linhas de 1,5 cm com as páginas numeradas. Os Artigos Originais devem ser organizados obedecendo à seguinte sequência: Título Original (inglês), Título Traduzido (português), Título resumido (inglês), Autor (es), Filiação Institucional, Abstract (Keywords) (inglês), Resumo (Palavras-chave) (português), Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões (ou combinação destes três últimos), Agradecimentos (facultativo) e Referências Bibliográficas. As tabelas e ilustrações deverão ser apresentadas separadas do texto e anexadas ao final do trabalho, sem legendas. As respectivas legendas deverão vir no texto logo após as referências bibliográficas. As Comunicações Científicas obedecem à sequência acima sem a necessidade de se destacar os tópicos, sendo escritas em texto corrido, conciso e limitado a 3.000 palavras, podendo incluir até 3 figuras ou tabelas, combinadas. Não mais que 20 referências devem ser citadas.

Características dos elementos de um trabalho científico

- Título Original

O título “cheio” e o subtítulo (se houver) não devem exceder 20 palavras. Não deverá aparecer nenhuma abreviatura, e os nomes de espécies ou palavras em

latim deverão vir em itálico. Evitar (por exemplo) títulos que iniciem com: Estudos preliminares; Observações sobre. Não usar o nome do autor e data de citação em nomes científicos.

- Autor(es)/Filiação

Na identificação, deve constar: nome completo e por extenso de todos os autores (sem abreviação), separados por ponto e vírgula. A Filiação Institucional deve informar os nomes próprios de todas as instituições e não suas traduções: Laboratório, Departamento, Faculdade ou Escola, Instituto, Universidade, Cidade, Estado e País, exatamente nessa ordem. No rodapé, deve constar as informações do autor para correspondência: Endereço completo, telefone e e-mail atualizado e ORCID, nessa ordem.

- “Abstract” e Resumo

Devem conter no máximo 200 palavras, em um só parágrafo sem deslocamento. Não devem conter citações bibliográficas. Siglas e abreviações de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso, por exemplo, Indirect Fluorescence Assay (IFA). Devem ser informativos, apresentando o objetivo do trabalho, metodologia sucinta, os resultados mais relevantes e a conclusão. O abstract redigido em língua inglesa e o resumo em língua portuguesa, ambos seguidos por keywords e palavras-chave, respectivamente.

- Keywords e Palavras-chave

As palavras-chave devem expressar com precisão o conteúdo do trabalho. São limitadas em no máximo 6 (seis), e separadas por vírgula.

- Introdução

Explicação clara e objetiva do estudo, da qual devem constar a relevância e objetivos do trabalho, restringindo as citações ao necessário.

- Material e Métodos

Descrição concisa, sem omitir o essencial para a compreensão e reprodução do trabalho. Métodos e técnicas já estabelecidos devem ser apenas citados e referenciados. Métodos estatísticos devem ser explicados ao final dessa seção.

- Resultados

O conteúdo deve ser informativo e não interpretativo: sempre que necessário devem ser acompanhados de tabelas, figuras ou outras ilustrações autoexplicativas.

- Discussão

Deve ser limitada aos resultados obtidos no trabalho e o conteúdo deve ser interpretativo. Poderá ser apresentada como um elemento do texto ou juntamente aos resultados e conclusão. Enfatizar a importância de novos achados e novas hipóteses identificadas claramente com os resultados.

- Conclusões

As conclusões podem estar inseridas na discussão ou em resultados e discussão, conforme a escolha dos autores. Nesse caso, esse item não será necessário.

- Agradecimentos

Quando necessário, limitados ao indispensável.

- Referências bibliográficas
 - Citações

As citações devem seguir o sistema autor-data:

Um autor: nome do autor e ano de publicação

Levine (1985) ou (Levine, 1985)

Dois autores: os nomes dos autores e ano da publicação

Paim & Souza (2011) ou (Paim & Souza, 2011)

Três ou mais autores: nome do primeiro autor seguido de "et al." e o ano de publicação

Araújo et al. (2002) ou (Araújo et al., 2002)

Só serão admitidas referências de fácil acesso aos leitores. Referências de difícil acesso poderão ser solicitadas aos autores, e em caso de não disponibilidade, deverão ser retiradas do texto. Não serão aceitas citações de trabalhos publicados em anais de congressos, e as teses devem estar disponíveis para consulta em sites oficiais, por exemplo, Banco de Teses da Capes: <http://www.capes.gov.br/servicos/banco-de-teses>. Todas as citações no texto devem ser cuidadosamente checadas em relação aos nomes dos autores e datas, exatamente como aparecem nas referências. Apresentar a lista de

referências em ordem alfabética e, se necessário, em ordem cronológica. Mais de uma referência do(s) mesmo(s) autor(es) no mesmo ano deve ser identificada pelas letras "a", "b", "c", etc., inseridas após o ano de publicação. Títulos de periódicos devem ser abreviados conforme Index Medicus - <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>.

Para referências com 6 ou mais autores, apresentar os seis primeiros nomes seguidos da expressão et al.:

- Livros

Levine JD. Veterinary protozoology. Ames: ISU Press; 1985.

- Capítulo de livro

Menzies PI. Abortion in sheep: diagnosis and control. In: Youngquist RS, Threlfall WR. Current therapy in large animal theriogenology. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 667-680.

- Artigo de periódico

Munhoz AD, Simões IGPC, Calazans APF, Macedo LS, Cruz RDS, Lacerda LC, et al. Hemotropic mycoplasmas in naturally infected cats in Northeastern Brazil. Rev Bras Parasitol Vet 2018; 27(4): 446-454. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-296120180074>

- Tese e Dissertação

Araujo MM. Aspectos ecológicos dos helmintos gastrintestinais de caprinos do município de patos, Paraíba - Brasil [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2002.

- Documento eletrônico

Centers for Disease Control and Prevention. Epi Info [online]. 2002 [cited 2003 Jan 10]. Available from: <http://www.cdc.gov/epiinfo/ei2002.htm>.

- Tabelas

Elaboradas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e no final. A legenda (título) é precedida da palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismos arábicos, devendo ser descritivas, concisas e inseridas acima das mesmas. As tabelas devem estar limitadas a um número mínimo necessário.

- Figuras

As figuras, tais como: desenho, fotografia, prancha, gráfico, fluxograma e esquema, devem ser enviadas em formato .tif, .eps ou .pdf, com no mínimo de 300 dpi de resolução e numeradas consecutivamente. Só serão admitidas figuras de alta qualidade. As legendas devem ser precedidas da palavra Figura, seguida da numeração em algarismo arábico e inseridas abaixo das mesmas. Listar as legendas numeradas com os respectivos símbolos e convenções, em folha separada em espaço duplo. Fotografias digitais deverão ser enviadas em arquivos separados, como foram obtidas. Se a escala for dada às figuras, utilizar a escala BAR em todas as ilustrações ao invés de numérica, que pode ser alterada com a redução das figuras.

- Prova Gráfica

O trabalho diagramado em formato pdf., será enviado por e-mail ao autor correspondente. Alterações no artigo, quando aceitas para publicação, devem ser realizadas nesse estágio, com permissão do editor-chefe. Portanto, o trabalho deve ser cuidadosamente corrigido antes de responder ao editor, pois inclusões de correções subsequentes (indicação de novo autor, mudança de parágrafos inteiros ou tabelas) não podem ser garantidas.

ANEXO F

- Instruções aos autores para a submissão de trabalhos na Pesquisa Veterinária Brasileira – Brazilian Journal of Veterinary Research.

1. Os artigos devem ser organizados em **TÍTULO, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES** (de preferência os últimos três separadamente), **Agradecimentos, Declaração de conflito de interesse e REFERÊNCIAS:**

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

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

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

d) O **Rodapé da primeira página** deve conter os endereços profissionais postais completos dos autores (evitando-se traços horizontais), na língua do país do respectivo autor (em português, espanhol, inglês) e seus e-mails; o e-mail do autor para correspondência deve ser sublinhado. Os sinais de chamada para os

nomes dos autores devem ser números arábicos, colocados em sobrescrito, sem o uso automático de “Inserir nota de fim”, do Word (essas chamadas devem ser contínuas por todo artigo, isto é, em todas as notas de rodapé das outras páginas).

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

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

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

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

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

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

k) **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados obtidos e devem ser apresentados em diferentes parágrafos (uma Conclusão somente deve ser apresentada em parágrafo único).

l) Os **Agradecimentos** não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé; devem ser sucintos e colocados antes da Declaração de conflito de interesse e

da Lista de Referências.

m) A Declaração de conflito de interesse é obrigatória e deve ser mencionada nos casos positivos ou negativos; deve ser sucinta e colocada imediatamente antes da Lista de Referências.

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

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

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

b) ABSTRACT e RESUMO serão escritos em um só parágrafo corrente e não devem conter citações bibliográficas.

c) A redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3. Apresentação das Figuras:

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

b) Enviar cada figura separadamente.

c) Identificar as figuras em ordem conforme a menção no texto.

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

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

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

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

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

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

Exemplos de Referências

- Artigos publicados em periódicos:

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

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

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

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

- Livros:

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

Marsh P. & Martin M. 1992. *Oral Microbiology*. 3rd ed. Chapman and Hall, London, p.167-196.

(Notem: A primeira letra de termos do título de livros deve ser maiúscula. Devem ser mencionadas as páginas que foram consultadas, em vez do total de páginas do livro.

- Capítulos de livros:

Barros C.S.L. 2007. Doenças víricas: leucose bovina, p.159-169. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria. Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012.

Plantas que afetam o funcionamento do coração, p.27-94. In: Ibid. (Eds), Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro.

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

- Dissertações e Teses:

Rech R.R. 2007. Alterações no encéfalo de bovinos submetidos à vigilância das encefalopatias espongiiformes transmissíveis. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 228p.

(Notem: (1) Deve-se evitar citações de Dissertações ou Teses; deve-se preferir citar artigos baseados nas mesmas e publicados em periódicos científicos que são de mais fácil acesso. (2) Não deve-se tentar de publicar o texto de Dissertação ou Tese praticamente na íntegra sem escrever um artigo conciso de seus resultados.

- Resumos publicados em eventos:

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

Pierezan F., Lemos R.A.A., Rech R.R., Rissi D.R., Kommers G.D., Cortada V.C.L.M., Mori A.E. & Barros C.S.L. 2007. Raiva em equinos. Anais XIII Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Campo Grande, MS, p.145-146. (Resumo)

(Note: Evitar na consulta o uso de Resumos ao invés de artigos na íntegra!)

ANEXO G**- Coleta do sangue por punção da veia jugular em equino**

Figura 1. Fonte arquivo pessoal

ANEXO H

- *Didelphis aurita* capturado na armadilha *Tomahawk*.



Figura 2. Arquivo pessoal

ANEXO I

- *Didelphis albiventris* capturado na armadilha *Tomahawk*.



Figura 3. Arquivo pessoal.

