



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA SANITÁRIA ANIMAL



MARCELO DE ABREU FALCÃO

**PESQUISA DE ANTI-VÍRUS CAUSADORES DE INFLUENZA E
ENCEFALOMIELE ENCEFALOMIELE EQUINA EM REBANHOS EQUIDEOS DA REGIÃO
DOS LENÇÓIS, MARANHÃO**

SÃO LUÍS

2017

MARCELO DE ABREU FALCÃO

**PESQUISA DE ANTI-VÍRUS CAUSADORES DE INFLUENZA E
ENCEFALOMIELITE EQUINA EM REBANHOS EQUIDEOS DA REGIÃO
DOS LENÇÓIS, MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Animal da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), para obtenção de grau de Mestre em Defesa Sanitária Animal.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Praseres Chaves

SÃO LUÍS

2017

**PESQUISA DE ANTI-VÍRUS CAUSADORES DE INFLUENZA E
ENCEFALOMIELITE EQUINA EM REBANHOS EQUIDEOS DA REGIÃO
DOS LENÇÓIS, MARANHÃO**

Dissertação de Mestrado em Defesa Sanitária Animal, defendida e aprovada em
_____ pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profª Dra. Eliana Monteforte Cassaro Villalobos

Doutorado em Epidemiologia Experimental

1º Membro

Profª Dra. Nancylene Pinto Chaves

Doutora em Biotecnologia

2º Membro

Prof Dr. Roberto Carlos Negreiros de Arruda

Mestre em Ciência Animal

Suplente

Prof. Dr. Daniel Praseres Chaves

Orientador

À minha filha, Maria Eduarda,
minha luz, minha inspiração, minha vida;

Aos meus pais, Cristina e José Falcão,
os melhores amigos do mundo;

À minha namorada, Layza Freitas,
amiga, companheira, guerreira, meu amor e

Aos meus amigos e mestres,
o que seria de mim sem eles?

Agradeço a Deus, por habitar em meu coração e nos corações de todos que andam ao meu lado.

A minha filha, Maria Eduarda, simplesmente por existir e sorrir, fazendo de mim o homem mais feliz do mundo, e por ela, capaz de encarar qualquer desafio.

Aos meus pais, Cristina e José Falcão, pelo enorme apoio e infinita paciência que têm comigo, nos momentos mais difíceis da minha vida e, sobretudo, pelo amor incondicional que ambos sentem por mim.

A minha namorada, Layza Freitas, por tudo que tem feito por mim, por nós, durante esta difícil caminhada, ajudando a retirar as pedras do caminho e a seguir em frente, e, pelo carinho, pela atenção e pelo amor que cresce e nos fortalece a cada dia.

Ao Amigo, Médico Veterinário, Mestre, Roberto Carlos Negreiros de Arruda, por servir de grande inspiração para que eu buscasse me qualificar, independente dos anos afastados da universidade ou das grandes responsabilidades que possuo com o meu trabalho e com a minha família.

Às amigas, Médicas Veterinárias, Mestres: Tânia Duarte; Ana Raysa Abas; Sonivalde Santana; Gisele Mesquita e Michele Lemos, por terem sido insistentes e incansáveis na missão de me convencer a cursar um mestrado e por me auxiliarem sempre que puderam desde a inscrição do concurso ao cumprimento de algumas tarefas do mestrado.

À amiga, futura Médica Veterinária, Priscila Alencar, um agradecimento especial, por ajudar a me transportar de volta ao mundo acadêmico e por doar sua experiência com trabalhos científicos em prol desta pesquisa e dissertação.

Às amigas, Médicas Veterinárias: Doutora, Nancylene Pinto Chaves e Mestre, Margarida Prazeres, e, à amiga, Engenheira

heira Agrônoma, Mestre, Socorro Lima, por me auxiliarem na escrita final desta dissertação, ajudando-me a enriquecê-la com uma leitura e interpretação mais técnica e científica e mais dinâmica e moderna.

Às Médicas Veterinárias, Doutoradas: Eliana Villalobos e Maria do Carmo Lara, e às Técnicas do Laboratório de Vírus do Instituto Biológico de São Paulo-SP, por terem me recebido com todo carinho, atenção e paciência possíveis, transferindo-me os conhecimentos técnicos necessários à realização e interpretação dos ensaios laboratoriais utilizados na pesquisa.

Às equipes dos Escritórios da Agencia Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão, dos Municípios de Barreirinhas, Humberto de Campos, Santo Amaro, Tutóia e Rosário: Médica Veterinária, Tiana Godinho Oliveira; Técnicos Agrícolas: Alex Nunes; Antônio Gregório Baldez Filho; Franciane Maria Soares; Gerson de Linhares; Luís Anacleto Santos; Moisés Oliveira e Samuel Pinto e Auxiliares administrativas: Francilene Catanhede; Raimundo Nonato Frazão Júnior e Rosiléa Amorim Sousa, por

terem sido essenciais ao desenvolvimento desta pesquisa, contribuindo com todas as atividades de campo até o envio das amostras aos laboratórios.

A toda competente equipe do valoroso Laboratório Cernitas, principalmente à Medica Veterinária, Erlin Cely Cavalcante e, em especial, ao Técnico de Laboratório, Amadeu Rocha, por terem sido igualmente atenciosos e pacientes comigo e por terem contribuído durante os procedimentos de preparo e conservação das amostras.

Ao meu digníssimo orientador, Professor, Doutor, Daniel Praseres Chaves, por suportar seu orientado, muitas vezes ocupados demais, e, não apenas agora, mas, por mais de dez anos, contribuindo constantemente com o meu crescimento, como médico veterinário, como funcionário público e como cristão.

À Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão e à Universidade Estadual do Maranhão, por financiarem e promoverem a oportunidade de tornar-me um profissional mais qualificado para que eu possa, com os conhecimentos adquiridos neste curso, contribuir, ainda mais, com a promoção da saúde da população e com o crescimento econômico deste Estado.

“As pedras no caminho a gente chuta

É super natural

Não deixo abaixar a minha moral

Tenho que me manter em movimento

A vida não é mole

Mas qualquer parada, enfrento”

Marcelo D2

RESUMO

O Brasil possui o maior rebanho de equinos na América Latina, deste quantitativo, o Estado do Maranhão detém o quarto maior de asininos e terceiro maior de muares. Os equídeos em geral, são destacados pela elevada susceptibilidade a diferentes tipos virais, representando fortes indicadores, ou mesmo sentinelas da circulação de determinados agentes em uma região. As enfermidades têm aumentado nesses animais, em virtude principalmente do trânsito intenso, quando se considera as principais zoonoses virais que acometem essa espécie como as encefalomielite equina leste, oeste e a Influenza Equina. Embora a ocorrência dessas doenças seja bem esclarecidas em boa parte do Brasil, no Maranhão, sobretudo na região dos Lençóis Maranhenses não existe dados. Destacando-se a emergência de doenças infecciosas em equinos em todo o mundo, sobretudo no Brasil, e a importância do conhecimento da ocorrência de determinada doença para que se possa fomentar medidas de prevenção e controle, esse trabalho teve como objetivo identificar a frequência de IE cepa H3N8, e EEL e EEO em equídeos na região dos Lençóis Maranhenses. Para tanto, coletou-se amostras de sangue de animais de 6 municípios, somando 19 povoados, com 443 animais amostrados. As amostras foram submetidas ao teste de Inibição de Hemaglutinação para IE, com titulação até 1:2560, e para EEL e EEO empregou-se a Técnica de Soroneutralização. Das 443 amostras analisadas 138 (31,2%) apresentaram anticorpos para IE com títulos variando de 1:20 até 1:640, 22,12% (99/443) foram reagentes a EEL e 1,35% (6/443) para EEO. Três animais foram reagentes concomitantemente para IE, EEL e EEO. Portanto, há a circulação das três estirpes virais nos equídeos da região dos Lençóis Maranhenses, ressaltando-se a importância para elaboração de medidas de prevenção e controle dessas enfermidades, uma vez que tratam-se de zoonoses com vários surtos relatado pelo mundo.

Palavras-chave: H3N8, Encefalomielite Equina Leste, Encefalomielite Equina Leste.

ABSTRACT

Brazil has the largest herd of horses in Latin America. Of this amount, the State of Maranhão has the fourth largest number of assininos and the third largest of mules. Equidae in general are highlighted by the high susceptibility to different viral types, representing strong indicators, or even sentinels of the circulation of certain agents in a region. The diseases have increased in these animals, mainly due to the intense traffic, when considering the main viral zoonoses that affect this species as the equine encephalomyelitis east, west and Equine Influenza. Although the occurrence of these diseases is well explained in much of Brazil, in Maranhão, especially in the region of Lençóis Maranhenses, there is no data. It was emphasized the emergence of infectious diseases in equines around the world, especially in Brazil, and the importance of knowing the occurrence of a certain disease in order to promote prevention and control measures. The objective of this study was to identify the frequency of IE Strain H3N8, and EEL and EEO in equidae in the Lençóis Maranhenses region. For this, blood samples were collected from animals from 6 municipalities, adding 19 villages, with 443 animals sampled. The samples were submitted to the Hemagglutination Inhibition test for IE, with titration up to 1: 2560, and for EEL and EEO the Soroneutralisation Technique was used. Of the 443 samples analyzed, 138 (31.2%) presented antibodies to IE with titers ranging from 1:20 to 1: 640, 22,12% (99/443) were EEL and 1.35% (6/443) For EEO. Three animals were reactive concomitantly to IE, EEL and EEO. Therefore, there is the circulation of the three viral strains in the equines of the region of Lençóis Maranhenses, emphasizing the importance for the elaboration of measures of prevention and control of these diseases, since they are zoonoses with several outbreaks reported by the world.

Keywords: H3N8, East Equine Encephalomyelitis, East Equine Encephalomyelitis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árvore máxima de credibilidade de clado para o gene HA completo do EIV H3N8. Os ramos estão em escala de tempo (anos) e são coloridos com base na localização mais provável do antepassado.....	25
Figura 2. Mapeamento das notificações realizadas para EEL, entre os anos de 2009 e 2017.....	30
Figura 3. Mapeamento das notificação realizadas para EEV, entre os anos de 2005 e 2017.....	32
Figura 4. Região dos Lençóis Maranhenses.....	49
Figura 5. Região dos Lençóis Maranhenses com povoados trabalhados.....	68
Figura 6. Coleta de sangue de <i>Gallus gallus domesticus</i> (galo doméstico) para obtenção de hemácias.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Prevalência da influenza equina subtipos 1 (H7N7) e 2 (H3N8) em estados brasileiros.....	27
Tabela 2. Prevalência para Encefalomielite Equina variável conforme a região do país.....	34
Tabela 3. Número de amostras coletadas, distribuídas por municípios e povoados da Região dos Lençóis Maranhenses.....	51
Tabela 4. Frequência de anticorpos anti-EEL e anti-EEO pela reação de soroneutralização de equídeos da região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	54
Tabela 5. Frequência de anticorpos anti-EEL e anti-EEO pela reação de soroneutralização em equídeos criados na Região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	56
Tabela 6. Ocorrência de anticorpos anti-EEL e EEO pela reação de soroneutralização segundo o sexo de equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	56
Tabela 7. Frequência de anticorpos anti-EEL e anti-EEO pela reação de soroneutralização, conforme a faixa etária dos equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	57
Tabela 8. Ocorrência de equídeos reagentes para EEL e EEO habitando os diferentes tipos de vegetação encontrados na região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	58
Tabela 9. Fatores de risco para o vírus da EEL em equídeos da Região dos Lençóis Maranhenses do estado do Maranhão, 2016.....	59
Tabela 10. Número de amostras coletadas, distribuídas por municípios e povoados da Região dos Lençóis Maranhenses.....	72
Tabela 11. Ocorrência de anticorpos para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, segundo o município de origem com as respectivas titulações, em equídeos pertencentes à região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	75
Tabela 12. Ocorrência de anticorpos para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, com relação a idade, em equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	76
Tabela 13. Ocorrência de anticorpos para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, com relação a finalidade, em equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	76
Tabela 14. Ocorrência de anticorpos para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, com relação ao sexo, em equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	76

Tabela 15. Ocorrência de anticorpos para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, com relação a finalidade, em equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.....	77
Tabela 16. Ocorrência de anticorpos para para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, em equídeos alocados próximo a locais com e sem aglomerações na região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017 em microplacas	78
Tabela 17. Fatores de risco para o vírus da Influenza Equina A equi 1 (H3N8) em equídeos da Região dos Lençóis Maranhenses do Estado do Maranhão, 2016	79

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGED-MA	Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão
AIE	Anemia Infecciosa Equina
CECAI	Comissão Estadual de Controle da AIE
CEEA	Conselho de Ética e Experimentação Animal
CESE	Comissão Estadual de Sanidade dos Equídeos
CMV	Conselho de Medicina Veterinária
DDA	Departamento de Defesa Animal
DICT50	Dose viral para 50% de células
EEL	Encefalomielite Equina Leste
EEO	Encefalomielite Equina Oeste
EEV	Encefalomielite Equina Venezuelana
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
FEPI	Ficha Epidemiológica Mensal
GTA	Guia de Trânsito Animal
HÁ	Hemaglutinina
HI	Inibição de Hemaglutinação
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IE	Influenza Equina
IN	Instrução Normativa
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
NA	Neuraminidase
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PESE	Programa Estadual de Sanidade dos Equídeos
PNSA	Programa Nacional de Sanidade Avícola
PNSE	Programa Nacional de Sanidade dos Equídeos
Q.S.P	Quantidade suficiente para...
RT – PCR	Reação de Transcriptase Transversa - Reação em Cadeia da Polimerase
SDN	Sociedade das Nações
SN	Soroneutralização
SVO	Serviço Veterinário Oficial
UVL	Unidade Veterinária Local

SUMÁRIO

CAPITULO 1: CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	16
1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	17
1.1 Justificativa	18
1.2 Hipótese	18
1.3 Objetivos	19
1.3.1 Geral	19
1.3.2 Específicos	19
1.4 Estrutura do Trabalho	19
REFERÊNCIAS	21
CAPITULO 2: REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 Influenza Equina	23
2.1.1 Etiologia	23
2.1.2 Epidemiologia	24
2.1.3 Patogenia, Sinais Clínicos e Patologia	26
2.1.4 Zoonose	27
2.1.5 Diagnósticos	27
2.1.5.1 Diagnóstico direto.....	27
2.1.5.2 Diagnóstico indireto.....	28
2.1.6 Controle e Profilaxia	28
2.1.7 Legislação Sanitária.....	28
2.2 Encefalomielite Equina	29
2.2.1 Etiologia	29
2.2.1.1 Encefalomielite Equina do Leste (EEL).....	29
2.2.1.2 Encefalomielite Equina do Oeste (EEO).....	30
2.2.1.3 Encefalomielite Equina Venezuelana (EEV).....	31
2.2.2 Epidemiologia	33
2.2.3 Patogenia, Sinais Clínicos e Patologia	34
2.2.4 Zoonose.....	35
2.2.5 Diagnóstico	35
2.2.5.1 Direto	35
2.2.5.2 Indireto	36
2.2.6 Controle e Profilaxia	36
2.2.7 Legislação Sanitária	36
REFERÊNCIAS	38
CAPITULO 3: ARTIGO 1	45
RESUMO	46

ABSTRACT	47
INTRODUÇÃO	48
MATERIAL E MÉTODOS	49
Área de estudo	49
Seleção de propriedades	50
Delineamento amostral	50
Coleta de dados	51
Coleta e processamento de amostras	52
Diagnóstico laboratorial	52
Fatores de risco	53
RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61
CAPITULO 4: ARTIGO 2	64
RESUMO	65
ABSTRACT	66
INTRODUÇÃO	67
MATERIAL E MÉTODOS	68
Área de estudo	68
Seleção de propriedades	69
Delineamento amostral	70
Coleta de dados	71
Coleta e processamento de amostras	71
Diagnóstico laboratorial	72
Fatores de risco	73
RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
CONCLUSÃO	80
REFERÊNCIAS	81
CAPITULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICE 1. AVALIAÇÃO CLÍNICA PARA INFLUENZA (GRIPE) E ENCEFALOMIELE (MAL DA RODA) EQUINA	88
APÊNDICE 2: RELAÇÃO DE ANIMAIS AMOSTRADOS	89
APÊNDICE 3: INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE DOENÇAS DE EQUÍDEOS	90
APÊNDICE 4: TERMO DE CONSENTIMENTO	94
ANEXO I	95
ANEXO II	97

CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O Brasil possui o maior rebanho de equinos na América Latina e o terceiro mundial, somados a muares e asininos, são oito milhões de animais, movimentando cerca de R\$ 7,3 bilhões, apenas com a produção de cavalos. Este quantitativo distribuiu-se entre 5.749.117 de equinos, 1.187.419 de asininos e 1.386.015 muares. A segunda maior população brasileira de equinos encontra-se na Região Nordeste, que além de equinos, possui o maior número de asininos e muares. O Estado do Maranhão, concentra cerca de 405.605 equídeos, sendo 177.841 equinos, 124.994 asininos e 102.770 muares. O Estado possui o quarto maior rebanho de asininos e terceiro maior de muares no Brasil (IBGE, 2006; MAPA, 2016).

Os equinos, apesar de utilizados para finalidades distintas como, lazer, esportes e até terapia, continuam sendo mais utilizados no trabalho diário nas atividades agropecuárias, sendo aproximadamente cinco milhões de animais, principalmente, no manejo do rebanho bovino (MAPA, 2016).

Os equídeos em geral, apresentam grande susceptibilidade a diferentes vírus, podendo ser utilizados como indicadores, ou mesmo sentinelas da circulação de determinados agentes em uma região. Nesses animais, as enfermidades têm aumentado principalmente em virtude do intenso trânsito, considerando as principais zoonoses virais como Encefalomielite equina leste, oeste e venezuelana, raiva, febre do Nilo Ocidental, tornando-se imprescindível a realização de estudos epidemiológicos (KOTAIT, 2008).

As características ecológicas, demográficas, sanitárias, socioeconômicas e políticas brasileiras, são fatores que favorecem o aparecimento das doenças emergentes e reemergentes. Nos Estados do Ceará, Paraíba e Pernambuco, Silva et al. (2011) relataram surtos de encefalomielite leste, e sugeriram por meio deste estudo, que os surtos da doença têm relação com as condições locais de temperatura média da região, precipitação pluviométrica que são fatores ambientais que determinam a densidade dos vetores (KOTAIT et al., 2010).

No ano de 2008, a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) relatou no Brasil, a ocorrência de 45 surtos de influenza equina em seis diferentes estados das regiões Sul, Sudeste e Nordeste (OIE, 2009). A influenza equina (IE) apresenta distribuição cosmopolita, sendo na maioria das vezes fatal para potros não colostrados, recém-desmamados, equinos não vacinados, asnos e animais submetidos a condições

sanitárias e de manejo deficientes (RADOSTITS, 2002). Essa é uma das doenças respiratórias mais relevantes em equinos, responsável por prejuízos econômicos devido aos surtos que ocorrem principalmente em animais de competição. A disseminação entre os animais ocorre de forma epidêmica, mediante condições de aglomerações, como exposições, competições e vendas dos equídeos (OLUSA et al., 2010).

1.1 Justificativa

A importância do tema proposto se justifica pela escassez de informações sobre a sanidade de equídeos na região dos Lençóis Maranhenses, e embora determinadas afecções de origem infecciosa sejam bem esclarecidas em outros ecossistemas, são necessárias que se conheçam suas prevalências em outras localidades, afim de que se esclareça a influência de determinados ecossistemas em seu curso.

Considerando a atualidade e relevância do assunto, associado à emergência de doenças infecciosas em equinos em todo o mundo e no Brasil é que se realizou esta pesquisa.

1.2 Hipótese

Parte-se da hipótese de que para o monitoramento e controle de doenças infectocontagiosas é necessário considerar as características epidemiológicas destas, associando a diferentes ferramentas de controle, como as técnicas diagnósticas. Assim, o conhecimento da epidemiologia da doença em um determinado local ou região pode contribuir para o monitoramento e controle das infecções causadas pelo vírus da influenza e encefalomielite equina em equinos da Região dos Lençóis, Maranhão.

1.3 Objetivos

1.3.1 Geral

- Pesquisar anticorpos antivírus causadores de Influenza Equina e Encefalomielite Equina em rebanhos equídeos da Região dos Lençóis Maranhenses.

1.3.2 Específicos

- Verificar a prevalência das infecções causadas pelos vírus da Influenza Equina e Encefalomielite Equina em rebanhos equídeos da Região dos Lençóis Maranhenses;
- Identificar fatores de risco associados às infecções causadas pelos vírus da Influenza Equina e Encefalomielite Equina em rebanhos equídeos da Região dos Lençóis Maranhenses;
- Conhecer como as infecções pesquisadas se comportam especificamente no bioma dos Lençóis Maranhenses.
- Realizar atividade de educação sanitária relacionada ao controle e profilaxia das doenças envolvidas e
- Fornecer subsídios às autoridades sanitárias para incremento e implantação de novas políticas sanitárias voltadas ao controle e profilaxia das doenças envolvidas.

1.4 Estrutura do Trabalho

Esta dissertação encontra-se estruturada em cinco capítulos:

- Capítulo 1: refere-se às considerações iniciais do trabalho, onde está incluída a justificativa do estudo, a hipótese do trabalho, além dos objetivos geral e específicos;
- Capítulo 2: encontra-se a fundamentação teórica desse trabalho versando sobre as doenças infectocontagiosas com foco nas infecções causadas pelos vírus da Influenza Equina e Encefalomielite Equina;
- Terceiro Capítulo: é apresentado um artigo, resultado desta pesquisa, intitulado “Frequência e fatores de risco associados aos vírus

causadores de Encefalomielite Equina em rebanhos equídeos da região dos Lençóis Maranhenses”;

- Quarto Capítulo: está o artigo “Frequência e fatores de risco associados aos vírus causadores de Influenza Equina em rebanhos equídeos da região dos Lençóis Maranhenses”, submetido ao periódico *Transboundary and Emerging Diseases*;
- Quinto Capítulo: São apresentadas as considerações finais deste trabalho.

REFERÊNCIAS

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção pecuária municipal, 2006. Disponível em: <<<<<
http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=44>> Acesso em 15 de Julho de 2017.

KOTAIT, I., et al. Programa de vigilância de zoonoses e manejo de eqüídeos do estado de São Paulo: módulo II: principais zoonoses virais de eqüídeos e vigilância epidemiológica em unidades municipais. *BEPA, Boletim Epidemiológico Paulista (Online)* [online]. 2008, vol.5, n.54, pp. 18-26. ISSN 1806-4272.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Eqüídeos, 2016. Disponível em << <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>>> Acesso em 20 de Abril de 2017.

OIE, World Organization for Animal Health. World Animal Health Information Database (WAHID) Interface. Equine Influenza (2009). Disponível em: <<http://www.oie.int/wahis/public.php>>. Acesso em 20 de junho de 2017.

OLUSA, T. A. O.; ADEGUNWA, A. K.; ADERONMU, A. A.; ADEYEFA, C. A. O. Serologic evidence of equine H7 Influenza virus in polo horses in Nigeria. *Science World Journal*, v. 5, n. 2, p. 17-19, 2010.

RADOSTITS OM, GAY CC, BLOOD DC, HINCHCLIFF KW 2002. Clínica veterinária-Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos, 9th ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1069 pp.

SILVA, M. L. C. R.; GALIZA, G. J. N.; DANTAS, A. F. M.; OLIVEIRA, R. N.; IAMAMOTO, K.; ACHKAR, S. M.; RIET-CORREA, F. Outbreaks of Eastern equine encephalitis in northeastern Brazil. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. v. 23, p. 570, 2011.

CAPÍTULO 2: REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Influenza Equina

2.1.1 Etiologia

A influenza equina (IE) é causada por um RNA-vírus da família *Orthomyxoviridae*, gênero *Influenzavirus*. A hemaglutinina, que é o principal imunógeno presente nesse vírus, e a neuraminidase, são as glicoproteínas presentes no envelope viral da influenza tipo A que permitem a distinção antigênica entre os subtipos Eq1 (H7N7) e Eq2 (H3N8), classificados também de acordo com o número dessas proteínas (LANDOLT, et al., 2007). Desde o ano de 1980, o subtipo viral H7N7 teria sido considerado mundialmente extinto, porém, estudos como os realizados por Heinemann et al. (2009) que relataram sorologicamente a presença deste subtipo em equinos no norte do Brasil, sugerem que sua circulação esteja ocorrendo de forma subclínica. O subtipo H3N8, ainda se encontra como responsável por vários casos de doença respiratórias endêmicas e epidêmicas em equídeos de todo o mundo (FAVARO; RICHTZENHAIN, 2016).

Foi definido um padrão demográfico e filogenético da IE a partir de uma análise coalescente bayesiana, e estimando-se os tempos ancestrais. Nessa análise do gene HA, realizou-se uma associação especial com o vírus da América do Sul. Foi estimado para diferentes grupos o tempo dos antepassados comuns mais recentes, grupo I, 1962; grupo VIII, 1984; clássico 1 da América do Sul, 1992 e sul-americano clade 2, 1997. Quanto aos vírus detectados na América do Sul em 2012, que foram agrupados no clade Florida 1, e o tempo dos antepassados comuns mais recente foi estimado em 2011. Os valores para grupos relevantes são mostrados nos nós, e grupos destacados em roxo correspondem ao clados sul-americanos (PERGLIONE, 2016).

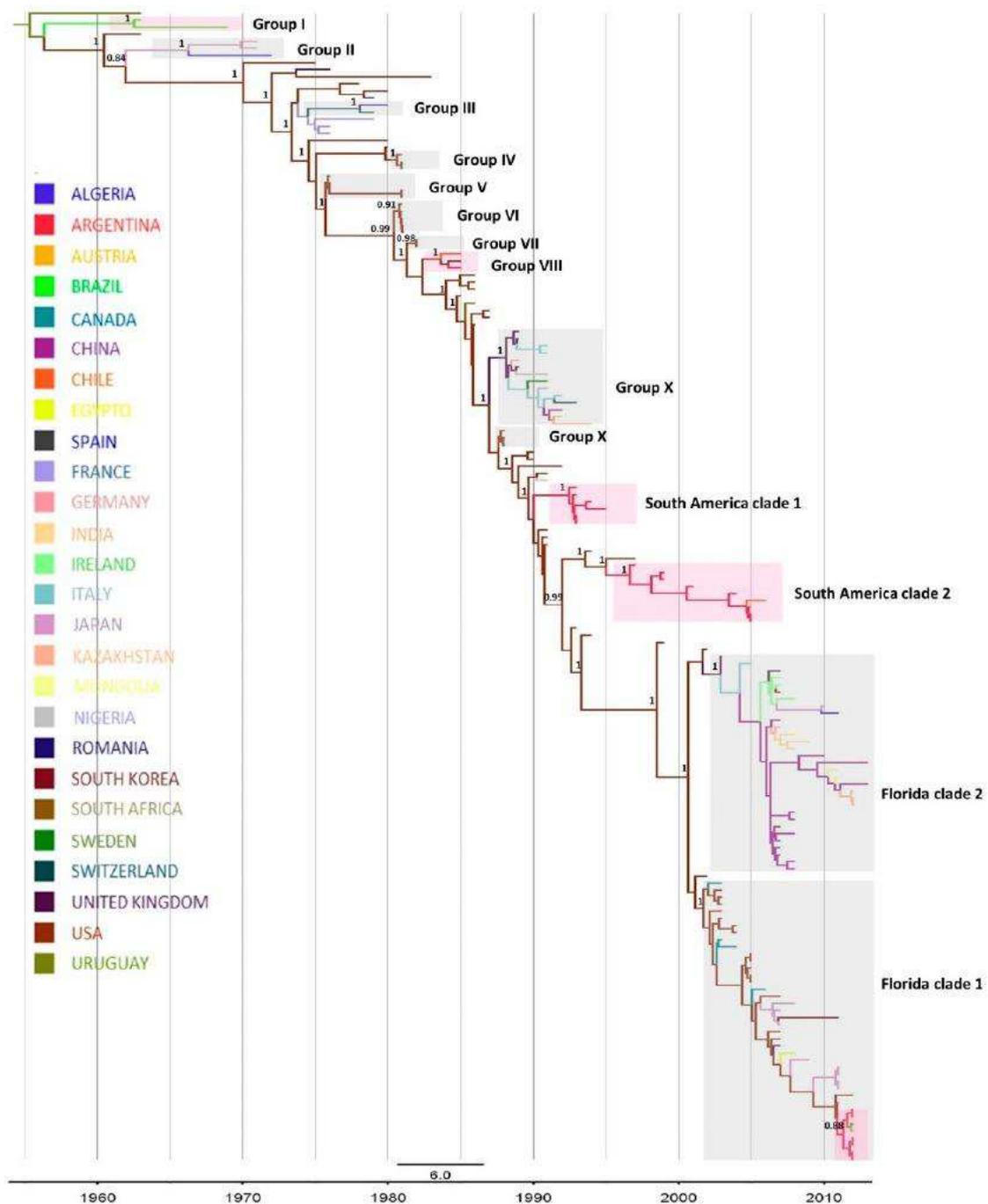


Figura 1. Árvore máxima de credibilidade de clado para o gene HA completo do EIV H3N8. Os ramos estão em escala de tempo (anos) e são coloridos com base na localização mais provável do antepassado. **Fonte:** PERGLIONE, 2016.

2.1.2 Epidemiologia

A IE possui distribuição cosmopolita, acomete todos os equídeos, independente de raça, sexo ou idade. Possui predileção pelo sistema respiratório e ocorre com maior frequência em animais com menos de três anos de idade, devido à

ausência de resistência imunológica, que, nos animais mais velhos, é adquirida por diversas infecções inaparentes. A IE é uma enfermidade altamente contagiosa, e a transmissão do agente se dá por meio do contato direto com aerossóis, água, alimentos e fômites (MANCINI et al., 2014). Segundo Lowen e Palese (2009), há um padrão de transmissão, diferindo entre climas temperados e úmidos, onde se observou que em regiões com clima temperado, há um predomínio de transmissão por aerossóis, sobretudo no inverno, enquanto nas zonas tropicais, o contato ainda é a forma mais frequente de contágio. O vírus apresenta um tempo de sobrevivência de 24 a 36 horas, maior que as cepas humanas e suínas que duram apenas 15 horas.

Em estudos iniciais sobre a infecção pelo H3N8, não foi observada o quadro da doença respiratória aguda no homem e em outras espécies (KASEL et al., 1965). Anos mais tarde, o vírus de origem equina provocou surtos em cães, atingindo uma parcela considerável da população canina dos Estados Unidos (CRAWFORD et al., 2005; PAYUNGPORN et al., 2008).

A IE apresenta aproximadamente 100% de morbidade, podendo, rapidamente, causar epidemias, com letalidade de menos de 1%, sendo os óbitos mais comuns em potros ou quando a doença oportuniza infecções bacterianas secundárias (CORREA; CORREA, 1992; MANCINI et al., 2014).

A frequência da doença no Brasil é bastante variável, ocorrendo nas diferentes regiões do País, sendo maiores em regiões com temperaturas mais baixas ou com maiores índices pluviométricos. Na Tabela 1 estão sumarizados valores de prevalência em diferentes estados brasileiros.

Tabela 1. Prevalência da influenza equina subtipos 1 (H7N7) e 2 (H3N8) em estados brasileiros.

ESTADOS	ANO	A/EQ1 (H7N7) (%)	A/EQ2 (H3N8) (%)
RJ (RODOVIAS FEDERAIS) ¹	2005	-	29,70
NORTE DO RS ²	2006	-	65,40
SUL DO PA ³	2006	-	35,79
RO (AMAZÔNIA OCIDENTAL) ⁴	2008	19,90	42,00
PA (AMAZÔNIA ORIENTAL) ⁵	2009	*55,60	*76,50
SUL DE SP ⁶	2009	2,70	11,00
PA, RN e SP ⁷	2012	-	54
SP ⁸	2013	91,66	100
RN ⁹	2013	-	90,04
SP ¹⁰	2014	98,6	97,22
MT ¹¹	2014	-	45,2
RN ¹²	2016	-	55,74

Fonte: Oliveira et al., 2005¹; Diel et al., 2006²; Pena et al., 2006³; Aguiar et al., 2008⁴; Heinemann et al., 2009⁵; Cunha et al., 2009⁶; Filippesen et al., 2012⁷; Filippesen et al., 2013^{8,9}; Mancini et al., 2014¹⁰; Silva et al., 2014¹¹; Ferreira, 2016¹².

2.1.3 Patogenia, sinais clínicos e patologia

Os surtos de IE podem provocar doença clínica em 98% de equídeos susceptíveis de uma população, porém, a taxa de mortalidade é menos de 1% e ocorre quando há doenças concomitantes (RADOSTITS, 2002). O período de incubação da IE é de normalmente um a três dias, com quadro respiratório agudo apresentando alta morbidade e baixa mortalidade. Os sinais clínicos são, perda dos cílios da superfície epitelial, febre, anorexia, tosse, dispneia, descarga nasal, descarga lacrimal, estase do muco, depressão, fraqueza, aumento dos linfonodos da cabeça, edema dos membros, laminite e, às vezes, pneumonia. A febre pode chegar até 42 °C, acompanhado por tosse seca severa, que pode persistir por um longo período. A descarga nasal é serosa, com possibilidade de apresentar-se mucopurulenta na presença de infecções secundárias a que o animal está predisposto (p.ex. *Streptococcus zooepidemicus* e *Pasteurella spp.*), levando ao agravamento do quadro, com possibilidade de óbito (RIET-CORREA, 2001; FLORES, 2007; MANCINI et al., 2014).

A IE é uma das enfermidades respiratórias mais importantes da espécie equina, provocando prejuízos econômicos principalmente em animais de competição,

através de surtos epizooticos, levando a cancelamento de provas de corrida, redução da performance atlética e custos no tratamento dos equinos (OLUSA et al., 2010; MANCINI et al., 2014).

2.1.4 Zoonose

A IE é uma enfermidade classificada como zoonose, por afetar animais e humanos (OLIVEIRA, 2005). Apesar dos relatos escassos da infecção humana, Crawford et al. (2005) alertam sobre o risco zoonótico da enfermidade, após encontrarem evidências que comprovam a contaminação por esse vírus entre mamíferos.

Em 1973 durante um estudo sobre a influenza equina no Chile, um estudante do caso apresentou um quadro de febre do tipo gripal grave com 40 °C, rinite, tosse, dispneia, com dor, dificuldade em engolir e aumento do volume das glândulas submandibulares. Os sinais clínicos duraram de cinco dias e após 14 dias. Uma amostra de sangue foi colhida e submetida ao teste com antígeno isolado de cavalos doentes, supostamente um vírus IE. Foi obtido um título de 2.560, porém, o vírus IE não foi tipificado (BERRÍOS et al., 2005).

2.1.5 Diagnóstico

2.1.5.1 Diagnóstico direto

Os métodos de diagnósticos diretos da IE são o isolamento viral a partir de *swabs* nasais/nasofaríngeas ou de lavados traqueais em líquido alantóide/amniótico de ovos embrionados de galinha ou em células MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*); detecção direta de nucleoproteína viral; identificação molecular através de RT-PCR (*Reverse Transcription e Polymerase Chain Reaction* - Transcrição Reversa seguido de Reação em Cadeia da Polimerase); imunofluorescência direta e qRT-PCR: RT-PCR quantitativa ou em tempo real (WHO, 2014; OIE, 2017).

2.1.5.2 Diagnóstico indireto

Os métodos indiretos preconizados para a detecção de anticorpos anti-influenza, são o teste da inibição da hemaglutinação (HI), com amostras pareadas do dia da detecção até 15 dias após, este método considera a ocorrência da soroconversão, com o aumento de no mínimo quatro vezes o título em relação à primeira colheita do soro, indicando que o animal apresentou a enfermidade; hemólise simples radial (SRH - *Single Radial Haemolysis*); e ensaio de microneutralização viral (WHO, 2014; OIE, 2017).

2.1.6 Controle e Profilaxia

A vacinação reduz a gravidade da doença e a propagação da infecção. As vacinas comercializadas atualmente são administradas via intramuscular e contêm antígenos inativados de ambos os tipos de vírus da influenza. Após a infecção natural, a imunidade dura aproximadamente 12 meses. Nos últimos dez anos o subtipo A/Eq1 (H7N7) não tem sido isolado de animais sintomáticos, permanecendo desta forma, o subtipo A/Eq2 (H3N8) como responsável pelas epidemias de influenza em equinos (MANCINI, 1996). Os animais suspeitos e/ou doentes devem ser prontamente isolados e os animais introduzidos no rebanho devem ficar em quarentena.

2.1.7 Legislação Sanitária

A IE é uma doença da Lista da OIE, de notificação compulsória mensal, em casos confirmados, segundo Instrução Normativa (IN) 50/13 – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2013). Atualmente existem apenas dois dispositivos legais relacionados ao controle da enfermidade no Brasil: Portaria Nº 162 de 18 de outubro de 1994, que dispõe sobre os requisitos sanitários para emissão de Guia de Trânsito Animal (GTA) para animais destinados às exposições, feiras e leilões, exigindo comprovantes de vacinação ou atestado clínico para influenza e Instrução de Serviço Departamento de Defesa Animal nº 017 de 16 de novembro de 2001, que determina a adoção de medidas sanitárias em razão da ocorrência de Influenza (influenza) equina (BRASIL, 2009).

2.2 Encefalomielite Equina

2.2.1 Etiologia

A encefalomielite viral dos equinos é uma doença infectocontagiosa, que pode afetar animais e humanos. A transmissão ocorre pela picada de um mosquito hematófago infectado, que em geral, possui vírus com alto título, promovendo uma infecção subcutânea que atinge a musculatura esquelética no ponto de inoculação, atingindo, posteriormente, as células de Langerhans que levam os vírus até os linfonodos locais (ACHA; SZYFRES, 2003). A transmissão também pode ocorrer por meio de aerossóis, como é o caso da Encefalomielite Equina Venezuelana. São conhecidos três diferentes tipos de RNA vírus, responsáveis por causar a enfermidade, sendo pertencentes à família *Togaviridae* do gênero *Alphavirus*, sendo eles o Leste (EEL), Oeste (EEO) e Venezuelana (EEV) (ACHA; SZYFRES, 2003; CASSEB, 2010). Os subtipos foram renomeados de acordo com a localização de sua primeira identificação [NC1](BARROS, 2007).

2.2.1.1 Encefalomielite equina do leste (EEL)

A EEL foi detectada pela primeira vez no ano de 1931, em Massachusetts, nos Estados Unidos da América (EUA), local onde se seguiu detectando vários surtos em vários outros estados. Em 1993, o vírus foi isolado pela primeira vez, sendo considerado o mais virulento dentre os três, ocasionando letalidade em animais de 80%-90% (ACHA; SZYFRES, 2003).

Essa enfermidade é reconhecida por causar doença neurológica grave em humanos (América do Norte) e equídeos (América do Sul), com relato de 26 (vinte e seis) casos humanos, com nove mortes, nos últimos seis anos nos EUA. A taxa de mortalidade é alta em humanos, onde crianças menores de 10 (dez) anos são mais susceptíveis. Os surtos estão relacionados principalmente com o aumento de temperatura e incidência de chuvas, o que provoca aumento da população de vetores. As taxas de letalidade chegam a 60%, sendo mais elevadas para crianças e idosos (DAVIS; BECKHAM; TYLER, 2008). O homem e os equídeos são considerados

hospedeiros terminais, enquanto as aves são refratárias à doença e funcionam apenas como reservatórios (HOLBROOK; GOWEN, 2008).

Em 2009, essa enfermidade foi incluída na lista de doenças de notificação obrigatória da OIE, desde então se tem relatado a mesma em vários países (Figura 1.)

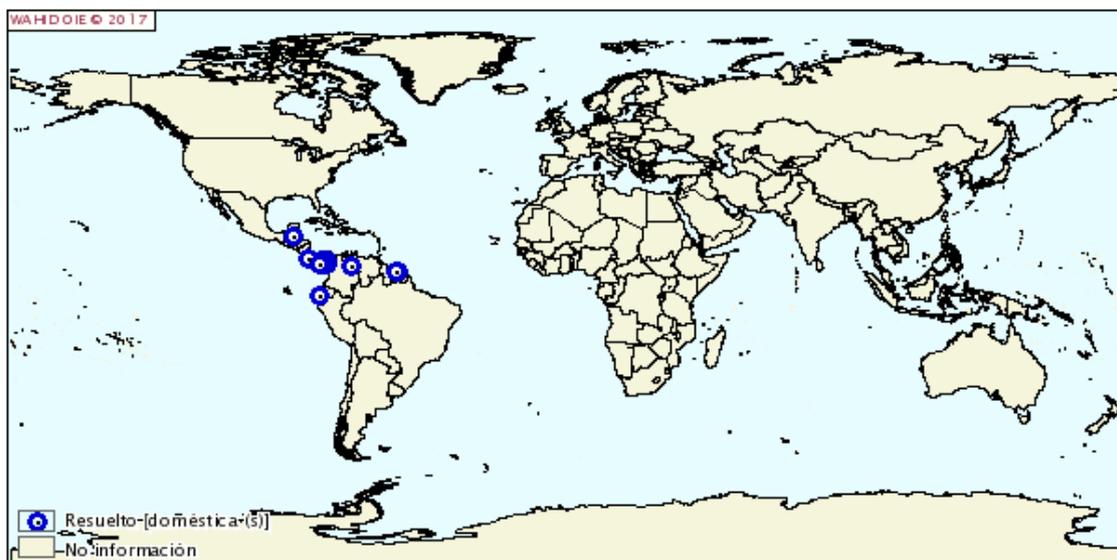


Figura 2. Mapeamento das notificações realizadas para EEL, entre os anos de 2009 a 2017. **Fonte:** OIE (2017).

O agente etiológico responsável por essa enfermidade apresenta-se com quatro linhagens, a primeira, a I, é a principal responsável pela enfermidade em humanos, e circula na América do Norte e Caribe; as demais linhagens, IIA, IIB, III, provocam a doença em equinos na América Central e do Sul (WEAVER et al., 2008). No Brasil, foram relatados surtos de EEL nos Estados do Ceará, Paraíba e Pernambuco (SILVA et al., 2011).

2.2.1.2 Encefalomielite Equina do Oeste (EEO)

A Encefalomielite Equina do Oeste (EEO) ocasiona doença neurológica grave em equídeos e humanos. Essa enfermidade está disseminada principalmente nas planícies do Oeste e nos vales dos EUA, Canadá e na América Latina. Seus vetores na Amazônia são tanto diurnos, *Aedes fulvus*, como noturnos, *Culex portesi* e *Culex pedroi*. A infecção natural, segundo inquéritos sorológicos e de isolamento viral, ocorre em galinhas, faisões, roedores, coelhos, ungulados, tartarugas e cobras (WEAVER et al., 2008). No ano de 2006, essa enfermidade foi incluída pela OIE, na lista de doenças de notificação obrigatória, mas nenhum caso foi notificado (OIE, 2017).

O vírus responsável por pela EEO, teve seu primeiro isolamento em 1938, apresentando semelhanças sorológicas e vetoriais com o EEL, sendo o mosquito do gênero *Culex* o vetor de ambas (BRUNO et al., 1961). Posteriormente, foi isolado em algumas áreas da América do Sul, em mosquitos hematófagos que se alimentam principalmente em mamíferos. Nessa região, os anticorpos são encontrados principalmente em ratos e coelhos, em outras áreas são encontrados principalmente em aves. Em áreas endêmicas o mecanismo pelo qual o vírus se mantém ainda não é conhecido (VASCONCELOS et al., 1991; WEAVER et al., 2008).

A EEO é uma das principais doenças em equídeos, e apesar de não apresentar-se de forma endêmica, quando contraída por potros provenientes de éguas não vacinadas, apresentam mortalidade que pode chegar até 100% (RADOSTITS, 2002).

As epidemias de EEO nos EUA geram grandes transtornos, acometendo principalmente humanos, cavalos e avestruzes, com taxa de letalidade de 10%, 20% a 40%, respectivamente. Em humanos, as manifestações são preocupantes, uma vez que pode ocorrer a transmissão transplacentária, com infecção perineal, contudo, pode se manifestar na primeira semana de vida com perda de apetite, febre e convulsões. Das crianças que se recuperam, 60% apresentam danos cerebrais, apresentando retardo mental, associado a tetraplegia, espasticidade, atrofia cortical, convulsões recorrentes, calcificação intracraniana e dilatação ventricular (GONÇALVES, 2011).

2.2.1.3 Encefalomielite Equina Venezuelana (EEV)

O primeiro isolamento do vírus responsável pela EEV ocorreu em 1934, em Guajira, Venezuela, é classificado como reemergente, envolvendo muitos susceptíveis, como cavalos e humanos, provocando um grande impacto econômico e social (WEAVER, 2004). A EEV foi incluída no ano de 2005, na lista de doenças de notificação obrigatória pela OIE, desde então, a enfermidade tem sido relatada oficialmente em alguns países (Figura 3).

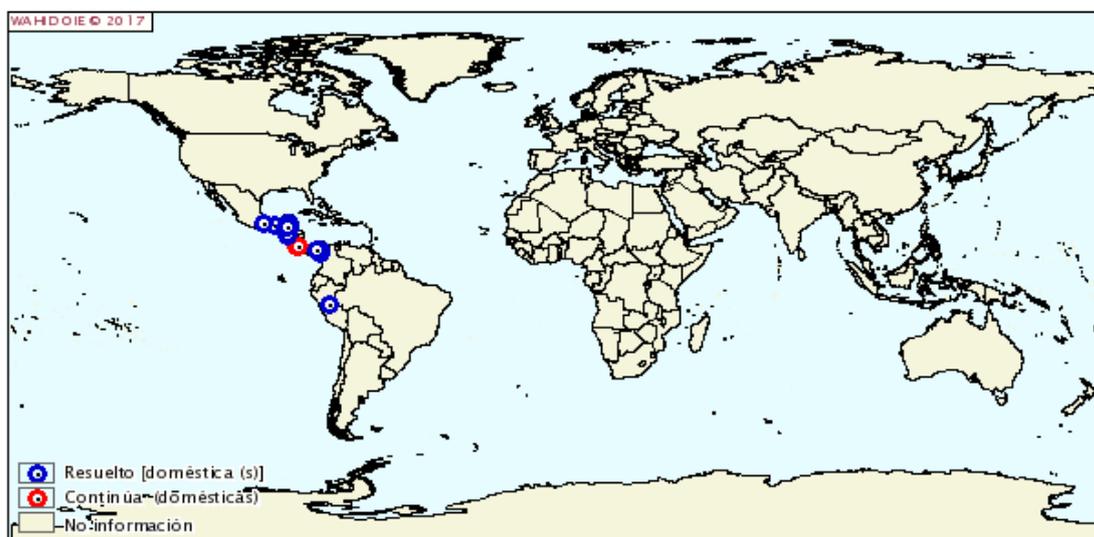


Figura 3. Mapeamento das notificações realizadas para EEV, entre os anos de 2005 e 2017. **Fonte:** OIE (2017).

O agente etiológico da EEV agrega um complexo distribuído em seis subtipos que se dividem de acordo com a epidemiologia e patogenicidade para equídeos e humanos. Esse grupo é dividido em cepas enzoóticas e epizoóticas. As estirpes enzoóticas são distribuídas em ID, IE, IF, II, III, IV, V e VI, estas circulam normalmente, entre gênero *Culex* e pequenos mamíferos, e são avirulentas para equídeos. A susceptibilidade dos equídeos aos vírus epizoóticos, como aos subtipos IA / B e IC, é alta, apresentando elevados índices de Encefalomielite, produzindo taxas de morbidade e mortalidade consideráveis. Estes subtipos são resultados, geralmente, de mutação genética de vírus enzoóticos (STEELE; TWENHAFEL, 2010).

Além da transmissão através do gênero *Culex*, esse agente é altamente infeccioso por aerossóis, sendo estes encontrados em secreções orais e nasais dos portadores (ZACKS; PAESSLER, 2010). Quando os mamíferos silvestres da região adquirirem imunidade, os morcegos podem atuar como hospedeiros, favorecendo a manutenção viral. Podem-se destacar os gêneros e/ou espécies de morcegos, o *Desmodus rotundus*, *Artibeus spp*, *Carollia perscipillata* e *Uroderma bilobatum*, comprovados por isolamentos realizados no Brasil, México, Equador e Guatemala (KOTAIT, 2008).

2.2.2 Epidemiologia

As arboviroses, como a EEL, EEO e EEV, permanecem na natureza pela transmissão biológica de um hospedeiro vertebrado a outro, através de artrópodes hematófagos, e no ciclo zoonótico dependem de um hospedeiro não humano infectado, com poucas exceções. Na Amazônia, foi relatado o isolamento do vírus da EEL, a partir de aves silvestres e mosquitos dos gêneros *Aedes* sp., *Culex* sp. e *Mansonia* sp. (VASCONCELOS et al., 1991). O gênero *Culex* apresenta distribuição em todo o território nacional, e são encontrados nos mais diversos habitats, até em locais menos povoados onde se abrigam nas vegetações marginais e aquáticas de rios. Esse mosquito possui pouca sensibilidade à poluição, e em locais onde há a contaminação torna-se a espécie dominante, podendo proliferar-se em criadouros, como caixas de gordura, fossas sépticas, piscinas não tratadas, entre outros (BRASIL, 2011; GUEDES, 2012).

Segundo Kotait et al. (2006), o homem e o equino se comportam no ciclo dessas aboviroses, como hospedeiros acidentais, não colaborando para a manutenção do vírus, semelhante a outros animais em que o vírus vem sendo relatado, como suínos, ovelhas, cães e demais espécies. Sugere-se que os surtos dessas enfermidades tenham estreita relação com a temperatura média da região, precipitação pluviométrica e fatores ambientais que influem diretamente na densidade dos vetores (KOTAIT et al., 2010). A morbidade é de aproximadamente 20% para essa enfermidade, sendo a letalidade de 20 a 30% para EEO; mais de 90% para EEL e variável para EEV (CORREA, 1992). A prevalência no Brasil para a EEL (tipo que mais ocorre nas américas) varia entre 20 a 30%, sendo maiores em regiões com temperaturas mais elevadas, de acordo com o que é demonstrado por diferentes pesquisadores (Tabela 2).

Tabela 2. Prevalência para Encefalomielite Equina variável conforme a região do país.

REGIÃO	ANO	EEL (%)	EEO (%)	EEV (%)
PA (Amazônia Oriental) ¹	2006	27,30	1,05	-
RO (Amazônia Acidental) ²	2008	21,00	-	11,30
SP (Sul) ³	2009	16,00	-	2,26
PB ⁴	2009	63,7 (SN)* 54,3 (IH)**	-	-
MT (Pantanal) ⁵	2010	47,7	-	-
MT (3 biomas) ⁶	2012	35,50	-	6,50
MG ⁷	2014	30,12	-	1,90
RN (Mossoró) ⁸	2016	11,01	0,84	-

Fonte: Heinemann, et al., 2006¹; Aguiar, et al., 2008²; Cunha, et al., 2009³; Araújo et al., 2012;⁴ Pauvolid-Corrêa et al., 2010⁵; Melo et al., 2012⁶; DE Souza, et al., 2014⁷; Ferreira, 2016⁸. * SN – Soroneutralização.b ** IN - Inibição da Hemalgotinação.

2.2.3 Patogenia, sinais clínicos e patologia

Sousa et al. (2015) ao realizar exames histopatológicos de quatro casos confirmados de EEE, observaram lesões acentuadas nos telencéfalos frontal e parietal, tálamo e núcleos basais, principalmente na substância cinzenta, possivelmente a origem dos sinais clínicos neurológicos. As três estirpes virais provocam sinais clínicos semelhante, podendo-se destacar, febre, diminuição dos reflexos, andar em círculos, falta de equilíbrio, movimentos de pedagem, paralisia e morte (JOHANN; SPEROTTO, 2012). Carrera et al. (2013), descrevem também, mastigação excessiva e cabeça em posição pendular, como os primeiros sinais clínicos em quadros neurológicos.

Segundo Kotait et al. (2010), as Encefalomielites dos equídeos, podem classificar-se dentro de quatro padrões e duas formas clínicas. Os padrões de infecção são: reação febril bifásica (fatal ou não); viremia, sem febre ou qualquer outro sintoma e, por último, ausência de viremia e manifestações clínicas. Já as formas clínicas, podem ser a atáxica, descritas com perda de equilíbrio, cegueira, aumento do quadrilátero de sustentação, apoio lateral; e a parálitica definida por depressão profunda, pálpebras tumefeitas, olhos fechados, sonolência e taquicardia.

2.2.4 Zoonose

Os humanos, assim como os equídeos, são considerados hospedeiros terminais das EEL e EEO, pois as transmissões equino-equino e equino-humano não ocorrem. Diferenciando, da transmissão do vírus da EEV, que pode ainda, ser eliminado por secreções orais e nasais, determinando a infecção por contato direto ou aerossóis (KOTAIT, 2008).

Até 1938, nada tinha sido confirmado, a respeito de casos humanos relacionados a EEL, EEO e EEV, apenas suspeitas foram levantadas. A dúvida foi acentuada, quando um surto de Encefalomielite, levou 30 crianças a óbito no nordeste dos EUA, mesma região onde havia ocorrido anteriormente um surto confirmado em equídeos (GRIFFIN, 2007).

Décadas mais tarde, mais de 100 casos humanos fatais foram confirmados na América do Norte. Na América do Sul, foram relatados apenas dois casos humanos fatais, sendo um no Brasil e outro em Trinidad (WEAVER; POWERS; BRAULT, 1999).

Dentre as Encefalomielites, EEL é considerado o mais virulento dentre os três subtipos, apresentando taxa de letalidade de 65% em humanos, com elevada frequência de sequelas permanentes nos sobreviventes, dentre elas, retardo mental, convulsões e paralisia. Apresentando maior susceptibilidade, crianças e idosos (KOTAIT, 2008).

Segundo Iversson et al. (1990), no Brasil, há relatos de ocorrência do subtipo IF, da EEV na região sudeste. Esse subtipo foi descrito ocasionando o quadro febril da enfermidade e diarreia em indivíduos que visitam a floresta tropical atlântica.

2.2.5 Diagnóstico

2.2.5.1 Direto

Os vírus das EEL, EEO e EEV possuem elevada sensibilidade às variações de pH e temperatura, o que dificulta seu isolamento, impondo o imediatismo no envio de amostras de Sistema Nervoso Central (SNC) ao laboratório. Os materiais que podem ser coletados para o isolamento são sangue e o líquido cefalorraquidiano, do animal na fase aguda. Esse isolamento pode ser realizado, em camundongos lactentes ou cultivos celulares em fibroblastos de embrião de galinha, [e linhagens de células VERO e](#)

BHK_{INC2}. Também tem sido utilizada técnicas moleculares (RT-PCR e sequenciamento) para diagnóstico das Encefalomyelites, permitindo a comparação dos diferentes isolados e estudos filogenéticos (GRIFFIN, 2001).

2.2.5.2 Indireto

A sorologia pode apresentar resultados confiáveis, através do uso de amostras de soro pareadas obtidas na fase aguda e na fase de convalescência (duas ou três semanas após) utilizando os testes de neutralização, inibição de hemaglutinação, fixação do complemento ou ELISA com anticorpos específicos. Soroconversão de até quatro vezes nos títulos de anticorpos das coletas de sangue é confirmatória de Encefalomyelite viral. Soropositivo em uma só coleta pode ser indicativo de infecção em casos de animais não-vacinados (GRIFFIN, 2001).

2.2.6 Controle e Profilaxia

A prevenção dos equídeos contra as Encefalomyelites equinas é realizada com o uso de vacinas, aplicadas em duas doses intervaladas de sete a 10 dias com revacinação semestral, recomendadas a partir do terceiro mês. No Brasil, as vacinas comerciais utilizadas são ainda as bivalentes (EEL e EEO) e inativadas, tendo em vista a não comprovação da ocorrência do vírus da EEV. Medidas de controle de vetores também reduzem o risco de exposição e, conseqüentemente, de infecção, tais como a pulverização de seus habitats, uso repelentes de insetos, eliminação de água parada e criadouros de mosquitos e realização da quarentena dos animais introduzidos no rebanho (KOTAIT, 2008).

2.2.7 Legislação Sanitária

A Encefalomyelite equina é uma doença da Lista da OIE, cuja a notificação é obrigatória e imediata, em casos suspeitos, segundo Instrução Normativa 50/13 – MAPA (MAPA, 2013). Atualmente não existem dispositivos legais relacionados ao

controle desta doença, no entanto, no Estado de São Paulo, é exigido o atestado de vacinação para trânsito animal para a EEL (KOTAIT, 2008).

Outras questões de ordem epidemiológicas também necessitam serem investigadas e respondidas, sobretudo às relacionadas ao ciclo das encefalomyelites, considerando a possibilidade da introdução de novos vetores hematófagos e pela participação das aves domésticas, silvestres e migratórias, participando deste ciclo.

Na área proposta pela pesquisa, os equinos, ainda que participem de vaquejadas, são primordialmente utilizados como animais no manejo diário de rebanhos, além da equinocultura visivelmente ser supervalorizada pela população local, ou seja, possui uma importância comercial representativa.

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades comunes al hombre y a los animales: clamidiosis, rickettsiosis y virosis. 3. ed. Washington, D.C.: *Organización Panamericana de la Salud*, 2003. 425 p.

AGUIAR, D. M., et al. "Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em eqüídeos do Município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira: Brazilian Western Amazon." *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 45.4 (2008): 269-276.

ARAÚJO, F. A. A., et al. "Soroprevalência de anticorpos anti-alfavírus em equídeos em um surto de Encefalomielite equina, Paraíba, 2009." *Revista Brasileira de Ciência Veterinária* 19.2 (2012).

BARROS C.S.L. 2007. Encefalomielites virais dos equinos, p.103-106. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R. (Eds), *Doenças de Ruminantes e Equídeos*. Vol.2. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria.

BERRÍOS, E. et al. Influenza equina en Chile (1963-1992): Un posible caso en un ser humano. *Revista chilena de infectología*, v. 22, n. 1, p. 47-50, 2005.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Legislação: programas nacionais de saúde animal do Brasil / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. – Brasília : MAPA/SDA/DSA, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de vigilância do *Culex quinquefasciatus* / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Coordenação Francisco Anilton Alves Araújo, Marcelo Santalucia. – 3ª ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011.

BRUNO LOBO M, TRAVASSOS J, PINHEIRO F, PAZIN IP. Estudos sobre arbovirus III. Isolamento de um vírus sorologicamente relacionado ao sub-grupo Western-Sindbis de um caso de encefalomielite eqüina ocorrido no Rio de Janeiro. *Anais de Microbiologia*. Rio de Janeiro. 1961; 9: 183-95.

CARRERA, J.P. et al. Eastern equine encephalitis in Latin America. *The New England Journal of Medicine*, v. 369, n. 1, p. 732-744, 2013.

CASSEB, A.R. Soroprevalência de anticorpos e padronização do teste ELISA sanduíche indireto para 19 tipos de arbovírus em herbívoros domésticos. 2010. 188p. Tese (Doutorado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém. 2010.

CORREA, W. M; CORREA, C. N. M. *Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos*. 2ª ed., Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda, 1992.

CRAWFORD, PC, DUBOVI, EJ, CASTLEMAN, WL, STEPHENSON, I., GIBBS, EP, CHEN, L., SMITH, C., HILL, RC, FERRO, P., POMPEY, J., BRIGHT, RA, MEDINA, MJ, JOHNSON, CM, OLSEN, CW, COX, NJ, KLIMOV, AI, KATZ, JM, DONIS, RO, 2005. Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science* 310 (5747), 482–485.

CUNHA, E. M. S., VILLALOBOS, E. M. C., NASSAR, A. F. C., LARA MCCSH, P. N., PALAZZO, J. P. C., SILVA, A., ... & PINO, F. A. (2009). Prevalência de anticorpos contra agentes virais em equídeos no sul do estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, 76, 165-171.

DAVIS, L E; BECKHAM, J D & TYLER, K L. North American encephalitic arboviruses. *Neurologic Clinics*. 2008. 26: 727-757.

DE SOUZA, M. C. C., et al. "Inquérito sorológico da infecção pelos vírus da encefalomielite equina no estado de Minas Gerais, Brasil." *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 51.1 (2014): 37-41.

DIEL, D. G., et al. "Prevalência de anticorpos contra os vírus da influenza, da arterite viral e herpesvírus em equinos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil." *Ciência Rural* 36.5 (2006).

FAVARO, Patricia Filippsen; RICHTZENHAIN, Leonardo José. A influenza equina no Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 53, n. 2, p. 117-126, 2016.

FERREIRA, H. I. P. "Soroepidemiologia de agentes virais de equinos de vaquejada na região de Mossoró/RN." (2016).

FILIPPSEN, P. "Pesquisa de anticorpos inibidores da hemaglutinação contra o vírus da influenza equina (subtipos: H7N7 e H3N8) em equídeos provenientes do Estado de São Paulo. " Diss. Universidade de São Paulo (2013).

FILIPPSEN, P.; MORI, E.; MORAES, C. C.; SAKAMOTO, S. M.; VILLALOBOS, E. M. C.; LARA, M. C. C. S. H.; CUNHA, E. M. S.; GREGORI, F.; BRANDÃO, P. E.; KURODA, R. B. S.; RICHTZENHAIN, L. J. Comparison between two methods to remove serum nonspecific inhibitors of hemagglutination against H3N8. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VIROLOGIA, 23.; ENCONTRO DE VIROLOGIA DO MERCOSUL, 7., 2012, Foz do Iguaçu. Proceedings... Foz do Iguaçu: *Sociedade Brasileira de Virologia*, 2012

FLORES, E. F. Virologia veterinária. Santa Maria. Ed. UFSM. 2007.

GONÇALVES, Alex George de Oliveira, et al. Inquérito soropidemiológico dos vírus das Encefalomyelites equinas do leste e do oeste em população de área sob influência do lago da hidrelétrica de Tucuruí-Pará. 2011.

GRIFFIN DE. Alphaviruses In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM Virology. 4ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.

GRIFFIN, D. E. "Alphaviruses, p 1023–1067." Fields virology, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2007).

GUEDES, Mário Pessôa. "CULICIDAE (DIPTERA) NO BRASIL: RELAÇÕES ENTRE DIVERSIDADE, DISTRIBUIÇÃO E ENFERMIDADES." *Oecologia Australis* 16.2 (2012): 283-296.

HEINEMANN, M. B., et al. "Soroprevalência da encefalomyelite equina do leste e do oeste no Município de Uruará, PA, Brasil." *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 43.supl. (2006): 137-139

HEINEMANN, M. B., et al. "Soroprevalência do vírus da influenza equina no Município de Uruará, PA, Brasil, Amazônia Oriental." *Arquivos do Instituto Biológico* 76 (2009): 697-9.

HOLBROOK MR, GOWEN BB: 2008, Animal models of highly pathogenic RNA viral infections: encephalitis viruses. *Antiviral Res* 78:69–78.

IVERSSON LB, ROSA APAT, RODRIGUES SG, ROSA MDB. Human disease caused by Venezuelan Equine Encephalitis subtype IF in Ribeira Valley, São Paulo, Brazil. In: *Abstract of Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, New Orleans, USA, p. 143, 1990.

JOHANN, M.; SPEROTTO, V. Encefalomyelites equinas de origem viral: revisão de literatura. In: XV Mostra de Iniciação Científica UNICRUZ, n.1, 2012. Cruz Alta. Resumos...Cruz Alta: UNICRUZ, p. 49, 2012.

KASEL, JA, ALFORD, RH, KNIGHT, V., WADDELL, GH, SIGEL, MM, 1965. Experimental infection of human volunteers with equine influenza virus. *Nature* 206, 41-43.

KOTAIT I, BRANDÃO P.E. & CARRIERI M.L. 2006. Vigilância Epidemiológica das Encefalomyelites Equinas. Instituto Pasteur, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, IP/CCD/SES-SP, Ano 3, Número 29.

KOTAIT, I.; CARRIERI, M.L.; SOUZA, M.C.A.M.; PERES, N.F.; FERRARI, J.J.F.; ARAUJO, F.A.A.; GONÇALVES, V.L.N. Vigilância de zoonoses em equídeos. Manual de vigilância de zoonoses e manejo de equídeos do estado de São Paulo. São Paulo: Secretaria de estado da saúde de São Paulo, 2010. 41p.

LANDOLT GA, TOWNSEND HGG, LUNN DP. EQUINE INFLUENZA INFECTION. In: Sellon DC, Long MT, editors. *Equine infectious diseases*. Philadelphia: Saunders *Elsevier*; 2007. p. 124-34.

LOWEN, A., PALESE, P., 2009. Transmission of Influenza Virus in Temperate Zones is Predominantly by Aerosol, in the Tropics by Contact: A Hypothesis. *The Public Library of Science Currents, Influenza* (RRN1002).

MANCINI, D. A. P., et al. "Influenza equina: avaliação da resposta imune humoral, através das reações de inibição da hemaglutinação e de hemólise radial simples, em soro de animais vacinados com vacina comercial e experimental." *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 33.1 (1996): 36-40.

MANCINI, D. A. P., PEREIRA, A. S. P., MENDONÇA, R. M. Z., KAWAMOTO, A. H. N., ALVES, R. C. B., PINTO, J. R., ... & MANCINI-FILHO, J. (2014). Presence of

respiratory viruses in equines in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56(3), 191-195.

MANCINI, D. A. P.; Geraldles, E.A.; Pinto, J. R. "Título de anticorpos em cavalos imunizados com vacina contra influenza eqüina." *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v.28, n.2, p. 171-7, 1991.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Doenças de Notificação Obrigatória - Instrução Normativa nº 50 de 24 de Setembro de 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/arquivos-das-publicacoes-de-saude-animal/Listadoencasanimaisdenotificacaoobligatoria.pdf>> Acesso em 15 de Julho de 2017.

MELO, R. M., et al. "Ocorrência de equídeos soropositivos para os vírus das encefalomyelites e anemia infecciosa no estado de Mato Grosso." *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo* 79.2 (2012): 169-175.

OFFICE INTERNATIONALE DES EPIZOOTIES. Animal Disease Information. 2017. Disponível em: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseaseoutbreakmaps/index/newlang/es?disease_type_hidden=0&disease_id_hidden=232&selected_disease_name_hidden=Encefalomyelitis+equina. Acessado em 22 de Maio de 2017.

OLIVEIRA, G. S.; SCHIAVO, P. A.; MAZUR, C.; ANDRADE, C. M. Prevalência de anticorpos para o vírus da Influenza Eqüina, subtipo H3N8, em equídeos apreendidos no estado do Rio de Janeiro. *Ciência Rural, Santa Maria*, v. 35, n. 5, p. 1213-1215, 2005.

OLUSA, T. A. O.; ADEGUNWA, A. K.; ADERONMU, A. A.; ADEYEFA, C. A. O. Serologic evidence of equine H7 Influenza virus in polo horses in Nigeria. *Science World Journal*, v. 5, n. 2, p. 17-19, 2010.

PAUVOLID-CORRÊA, A.; TAVARES, F. N.; COSTA, E. V.; BURLANDY, F. M.; MURTA, M.; PELLEGRIN, A. O.; NOGUEIRA, M. F.; SILVA, E. E. Serologic evidence of the recente circulation of Saint Louis encephalitis virus and high prevalence of equine encephalitis viruses in horses in the Nhecolândia subregion in South Pantanal,

Central-West Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 105, n. 6, p. 829-833, 2010.

PENA, L. J., et al. "Levantamento soro-epidemiológico da infecção pelo vírus da anemia infecciosa eqüina, da influenza eqüina-2 e do herpesvírus eqüino-1 em rebanhos do sul do Estado do Pará, Brasil." *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 43.4 (2006): 537-542.

RADOSTITS OM, GAY CC, BLOOD DC, HINCHCLIFF KW 2002. Clínica veterinária-Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos, 9th ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1069 pp.

RIET-CORREA, F; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. D.; LEMOS, R. A. A. *Doenças de Ruminantes e Eqüinos*. 2ª ed., v.1., São Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda, 2001.

SILVA, L. G. E., BORGES, A. M. C. M., VILLALOBOS, E. M. C., LARA, M. D. C. C. S., CUNHA, E. M. S., OLIVEIRA, A. C. S. D., ... & AGUIAR, D. M. (2014). Prevalence of antibodies against influenza virus in non-vaccinated equines from the Brazilian Pantanal. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56(6), 487-492.

SILVA, M. L. C. R.; GALIZA, G. J. N.; DANTAS, A. F. M.; OLIVEIRA, R. N.; IAMAMOTO, K.; ACHKAR, S. M.; RIET-CORREA, F. Outbreaks of Eastern equine encephalitis in northeastern Brazil. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. v. 23, p. 570, 2011.

STEELE, K. E., AND N. A. TWENHAFEL. "REVIEW PAPER pathology of animal models of alphavirus encephalitis." *Veterinary Pathology Online* 47.5 (2010): 790-805.

VASCONCELOS P.F.C., TRAVASSOS-DA-ROSA J.F.S., TRAVASSOS-DA-ROSA A.P.A., DEGALLIER N., PINHEIRO F.P. & SÁ-FILHO G.C. 1991. Epidemiologia das Encefalomyelites por arbovírus na Amazônia Brasileira. *Revista Instituto Medicina Tropical*, São Paulo, 33(6):465-476.

WEAVER S. C., FERRO C, BARRERA R, BOSHELL J, NAVARRO JC. Venezuelan equine encephalitis. *Annual Review of Entomology*. 2004; 49:141-74.

WEAVER S. C., POWERS AM, BRAULT AC: 1999, Molecular epidemiology studies of veterinary arboviral encephalitides. *The Veterinary Journal* 157:123–138.

WEAVER, S C; FORRESTER, N L; KENNEY, J L, DEARDORFF, E & WANG, E. Western equine encephalitis submergence: lack of evidence for a decline in virus virulence. *Virology* 380. 2008, 170–172.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global influenza surveillance network: Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. *Genebra*: WHO, 2011. 153 p.

WHO. World Organization for Animal Health. Serologic diagnosis of influenza vírus infections by hemagglutination inhibition. In: WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. WHO; 2014. Disponível em: <http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/molecular_diagnosis_influenza_virus_humans_update_201403.pdf?ua=1&ua=1> Acesso em 07 de Fevereiro de 2017.

ZACKS, M. A.; PAESSLER, S. Review paper: Encephalitic alphaviruses. *Veterinary Microbiology*. v. 140, n. 1, p. 281-286, 2010.

CAPÍTULO 3: ARTIGO 1

FREQUÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AOS VÍRUS CAUSADORES DE ENCEFALOMIELTE EQUINA EM REBANHOS EQUÍDEOS DA REGIÃO DOS LENÇÓIS MARANHENSES

RESUMO

O Brasil possui o maior rebanho equídeo da América Latina e o terceiro mundial, deste quantitativo, o Estado do Maranhão concentra o quarto maior rebanho de asininos e terceiro maior de muares. Esses animais são utilizados para atividades distintas como lazer, esportes e até terapia, porém, merecem destaque pela elevada susceptibilidade a diferentes tipos virais, representando fortes indicadores, ou mesmo sentinelas da circulação de determinados agentes em uma região. Desses agentes virais, pode-se destacar os vírus da EEL e a EEO, que provocam encefalomiелites infectocontagiosas zoonóticas, de caráter agudo, emergentes, de rápida disseminação e curso clínico agudo. No Maranhão, nenhum estudo sobre essas duas encefalomiелites foi realizado, sobretudo na região dos Lençóis Maranhenses, partindo-se do pressuposto que se deve conhecer a frequência e distribuição de determinada doença para que se possa elaborar medidas de controle e profilaxia, esse estudo teve o objetivo de determinar a frequência e os fatores de risco associados aos vírus causadores de encefalomiелite em rebanhos equídeos da Região dos Lençóis Maranhenses. Para tanto, coletou-se amostra de sangue de animais 6 municípios, somando 19 povoados, com 443 animais amostrados, que foram submetidos a Técnica de Soroneutralização para detecção de anticorpos anti - EEL e anti – EEO. Das 443 amostras analisadas 138 (99/443) foram reagentes a EEL e 1,35% (6/443) para EEO. Constatou-se que há a circulação dessas duas estirpes virais nos equídeos da região dos Lençóis Maranhenses, e ressalta-se a importância para elaboração de medidas de prevenção e controle dessas enfermidades, uma vez que tratam-se de zoonoses com vários surtos relatado pelo mundo.

Palavras-chave: Encefalomiелite Equina Leste, Encefalomiелite Equina Oeste, Maranhão.

ABSTRACT

Brazil has the largest equine herd in Latin America and the third largest in the world, the State of Maranhão is the fourth largest herd of cattle and the third largest of mules. These animals are used for different activities such as leisure, sports and even therapy. However, they deserve special mention due to the high susceptibility to different viral types, representing strong indicators, or even sentinels of the circulation of certain agents in a region. Of these viral agents, we can highlight the EEL and EEO viruses, which cause acute, emerging, fast-spread zoonotic infectious-contagious encephalomyelitis and an acute clinical course. In Maranhão, no study of these two encephalomyelitis was performed, especially in the region of Lençóis Maranhenses, starting from the assumption that the frequency and distribution of a particular disease must be known in order to establish control and prophylaxis measures. To determine the frequency and risk factors associated with encephalomyelitis virus in equine herds in the Lençóis Maranhenses Region. For this purpose, a sample of blood of 6 animals was collected, adding 19 villages with 443 sampled animals, which were submitted to a Seroneutralisation Technique for the detection of anti-EEL and anti-EEO antibodies. Of the 443 analyzed samples 138 (99/443) were EEL reagents and 1.35% (6/443) for EEO. It was verified that there are the circulation of these two viral strains in the equines of the Lençóis Maranhenses region, and it is important to elaborate measures of prevention and control of these diseases, since they are zoonoses with several outbreaks reported by the world .

Keywords: Eastern Equine Encephalomyelitis, Western Equine Encephalomyelitis, Maranhão.

INTRODUÇÃO

As encefalomyelites equinas são doenças infectocontagiosas zoonóticas, de caráter agudo, causadas por vírus pertencente à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*, ao qual pertencem as três espécies do vírus: (i) vírus da Encefalomyelite equina do leste (EEL); (ii) vírus da Encefalomyelite equina do oeste (EEO) e (iii) vírus da Encefalomyelite equina venezuelana (EEV). Estes receberam as referidas denominações de acordo com a localização de sua primeira identificação (KOTAIT, 2006).

Os alfavírus são mantidos na natureza por meios de ciclos alternados em hospedeiros vertebrados e mosquitos. Os mosquitos se infectam em hospedeiros virêmicos, e após um período de replicação nos tecidos do inseto o agente é transmitido a outro hospedeiro pela inoculação de saliva contaminada, produzindo viremia e, às vezes enfermidade (FLORES, 2007). A atividade vírica máxima acontece no início do verão nos animais reservatórios (aves e os pássaros silvestres), que apresentam viremia com títulos altos, suficientes para infectar vetores, principalmente do gênero *Culex*. Equinos e humanos são hospedeiros terminais das EEO e EEL, pois, as transmissões equino-equino e equino-humano não ocorrem. Diferentemente, a transmissão do vírus da EEV, que pode ser eliminado por secreções orais e nasais, pode ocorrer por contato direto ou aerossóis (KOTAIT, 2008). Humanos e equinos são hospedeiros acidentais, que apresentam viremia com títulos baixos (KOTAIT, 2006).

Independente da espécie do vírus, equinos infectados manifestam a mesma sintomatologia: conjuntivite, febre; alterações de reflexo; andar em círculo; os animais tentam aumentar seu apoio e, quando caem, apresentam movimentos de pedalagem, paralisia e morte. Em humanos, a doença se instala de forma súbita, com febre, dor de cabeça, conjuntivite, vômitos e letargia, progredindo rapidamente para delírio e coma. Os sinais nervosos consistem em rigidez de nuca, convulsões e reflexos alterados (KOTAIT, 2006). Animais infectados pelo vírus da Encefalomyelite equina venezuelana podem morrer subitamente, sem manifestar sinais clínicos (FLORES, 2007).

Por se tratar de uma doença de caráter emergente, de rápida disseminação e curso clínico agudo, a encefalomyelite equina deve ser tratada com especial atenção, pois os surtos são recorrentes, e a vacinação não costuma ser uma prática adotada em todos os países. Deve se ter um monitoramento dos animais (vetores e reservatórios), para haver um controle da transmissão aos hospedeiros finais (mamíferos) (JOHANN; SPEROTTO, 2012). Neste contexto, o estudo foi realizado com o objetivo de

determinar a frequência e os fatores de risco associados aos vírus causadores de encefalomielite em rebanhos equídeos da Região dos Lençóis Maranhenses.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

A pesquisa foi realizada na Região de Planejamento dos Lençóis Maranhenses que é composta por seis Municípios: Barreirinhas (1); Humberto de Campos (2); Paulino Neves (3); Primeira Cruz (4); Santo Amaro do Maranhão (5) e Tutóia (6) (Figura 4). Caracteriza-se, de forma homogênea, como uma enorme superfície costeira, predominantemente, recoberta por dunas e intercortada por lagoas perenes e sazonais. A região possui um forte potencial turístico, recebendo visitantes do mundo inteiro, sendo esta sua principal fonte de renda. É grande produtora de pescados e de castanha de caju (IMESC, 2016).

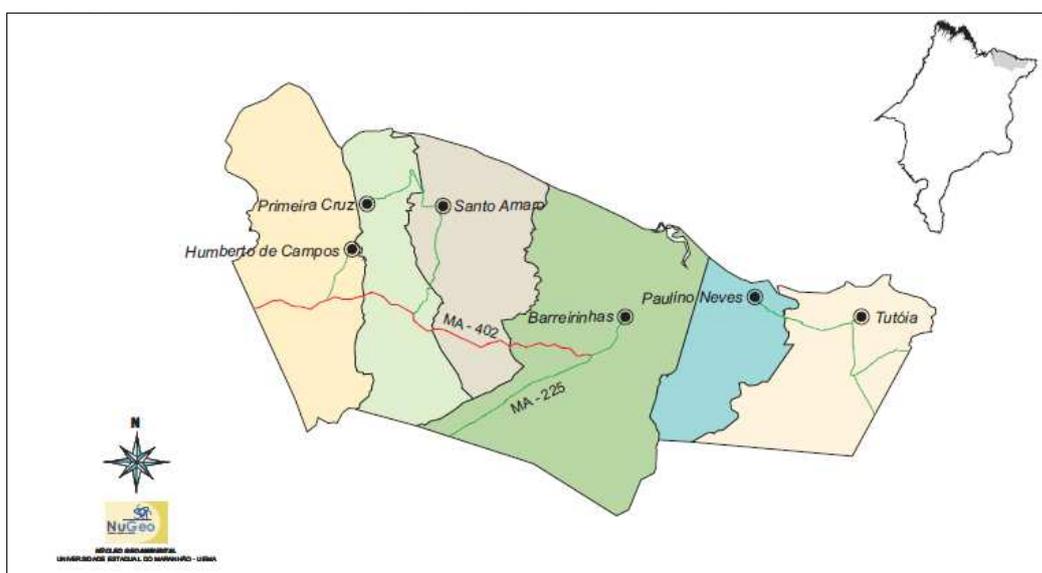


Figura 4. Região dos Lençóis Maranhenses. **Fonte:** IMESC, 2016.

Trata-se de uma área com 10.754,950 Km² e 176.200 habitantes, sendo: 64.085 (36,37%) de população urbana e 112.115 (63,63%) de população rural, onde encontram-se distribuídos cerca de 6.239 equídeos, sendo: 1.774 (28,43%) asininos; 3.241 (51,95%) equinos e 1.224 (19,62%) muares, distribuídos em 3.558 propriedades rurais (IBGE, 2006; IBGE 2010).

A maior parte dos equídeos desta região, pertencem a pequenos produtores rurais que, diariamente, utilizam seus animais para o trabalho à campo (“lida do gado”),

contudo, uma parte deste rebanho, periodicamente, também é utilizada para a prática de esportes: vaquejada nos municípios 1, 3 e 6 e corrida de prado (ou “canha reta”) nos municípios 2, 4 e 5. Estes eventos, em sua maioria, acontecem em pequenos parques e pistas localizados em povoados distantes das sedes dos referidos municípios e, geralmente, são organizados por associações locais de cavaleiros e possuem uma abrangência apenas regional.

Nesta região não se tem observada a prática de vacinação contra as doenças pesquisadas ou contra quaisquer outras.

Seleção de Propriedades

Primeiramente faz-se necessário esclarecer que, em defesa agropecuária, o conceito de “propriedade rural” não se limita ao convencional, ou seja, não é apenas um terreno cercado, onde se pratica alguma atividade agropecuária, como, fazendas, sítios ou ranchos, mas, muito mais do que isto, propriedade é uma unidade epidemiológica que pode se constituir de uma ou mais unidades de criação (ou de produção) que estão submetidas aos mesmos riscos sanitários. Desta forma, também se enquadram neste novo conceito, outros complexos rurais como: povoados; assentamentos ou até as sedes dos municípios do interior aonde, geralmente, não se tem nas residências uma área para criação, por exemplo, e todos os animais da sede costumam pastar em áreas comuns, como: campos inundáveis; matas de cocais ou florestas de mangue.

O número, a distribuição e a escolha das propriedades amostradas ocorreram de forma totalmente aleatória, sendo visitada pelo menos uma por município. As visitas ocorreram em paralelo com os atendimentos diversos do Serviço Veterinário Oficial (SVO), demandados às equipes da Unidade Veterinária Local (UVL) de Barreirinhas, que possuem jurisdição na região pesquisada. Desta forma, foram trabalhadas 19 (dezenove) propriedades, sendo: seis em Barreirinhas; quatro em Humberto de Campos (uma delas, a única fazenda do estudo); duas em Paulino Neves; quatro em Primeira Cruz; duas em Santo Amaro do Maranhão e uma em Tutóia.

Delineamento Amostral

Em consequência da estratégia utilizada na escolha das propriedades, o número, a distribuição e a seleção dos equídeos também ocorreram de maneira aleatória. Foram amostrados 443 equídeos entre os seis municípios e as três espécies pesquisadas, calculado por meio da fórmula proposta por Callegari-Jacques (2007), onde se considerou o tamanho da população ($N = 6.239$), o erro amostral tolerável ($E0 = 5\%$) e

a estimativa do tamanho da amostra ($n_0 = 400$). Foram encaminhadas 443 amostras para diagnóstico, sendo 84 (18,96%) de asininos; 304 (68,62%) de equinos e 55 (12,42%) de muares, distribuídos, por municípios e propriedades (Tabela 3).

Tabela 3. Número de amostras coletadas, distribuídas por municípios e povoados da Região dos Lençóis Maranhenses.

Município	Povoado (ou Fazenda)	Número de Amostras Coletadas			
		Asininos	Equinos	Muares	Total
Barreirinhas	Palmeira dos Ferreiras	02	14	0	16
	Massangano	0	20	14	34
	Aníbal	01	27	08	36
	Paú	0	03	0	03
	Olho D'água dos Necas	0	04	01	05
	Laranjeiras	0	22	01	23
	Marçalina	0	04	0	04
Humberto de Campos	Rampa	04	07	0	11
	Ipê Casco de Burro	0	02	0	02
	Flexeira	04	10	0	14
Paulino Neves	Rio Novo	63	107	14	184
	Marrocos	0	07	0	07
Primeira Cruz	Alegre	04	05	02	11
	Morro do Chapéu	0	03	00	03
	Jatobá	0	02	01	03
	Bulandeira	0	0	03	03
Santo Amaro	Malhadinha	03	38	08	49
	Sede	0	05	0	05
Tutóia	Arpoador	03	24	03	30
TOTAL		84	304	55	443

Coleta de Dados

Os criadores foram sensibilizados através de palestra, na qual se informou sobre a Encefalomielite e Influenza Equina, e a importância da pesquisa em relação à sanidade. Em seguida, os mesmos autorizaram, através da assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido que assegurava o sigilo das informações relatadas, a submissão dos animais a avaliação clínica, coleta de material, e o uso das informações obtidas.

Os animais foram avaliados clinicamente, atentando-se principalmente para a presença de quadros de falta de coordenação motora, cegueira e salivação. Os dados

clínicos foram registrados individualmente, objetivando-se identificar sinais clínicos compatíveis com doenças nervosas.

Coleta e Processamento de Amostras

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (CEEVA/CMV/UEMA) sob protocolo nº09/2016 em 8 de Julho de 2016.

Foram coletadas amostras de sangue em duplicata, sendo 10 (dez) mL de cada animal, através da punção da veia jugular, utilizando-se o sistema de coleta a vácuo. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente com ângulo de 45° até ocorrer a formação e retração de coágulo. Logo após, foram armazenadas sob refrigeração e encaminhadas aos escritórios da Agência Estadual de Defesa Agropecuária (AGED) de Barreirinhas e de Humberto de Campos, onde foram centrifugadas e armazenadas em freezer a -20°C. Ao final das coletas, as amostras foram levadas sob refrigeração em caixas térmicas ao Laboratório Cernitas, em São Luís, Maranhão.

Diagnóstico Laboratorial

Para a pesquisa de anticorpos contra o vírus da EEL e EEO foi utilizada a Técnica de Soroneutralização (SN), segundo Cunha et al. (2009). Os soros foram testados em diluições na base cinco para detecção de anticorpos contra EEL e EEO, frente a 100 DICT50/25 µL de suspensão dos vírus leste (amostra Tatuí) e oeste (amostra TR 25717). Após a incubação, por uma hora a 37° C, foram adicionados 100 µL de uma suspensão de células VERO para os testes de EEL e EEO, contendo 250.000 células/mL. A leitura das placas para a técnica de SN foi realizada após 72 horas de incubação, em estufa com 5% de CO₂ e a 37° C, observando-se se ocorreu a neutralização do efeito citopático.

Os títulos de anticorpos neutralizantes foram expressos em valores do inverso da diluição que deve neutralizar 100 DICT50 do vírus. São considerados reagentes os soros com título ≥ 5 para os vírus EEL e EEO, conforme recomendação da OIE (DE SOUZA et al., 2014). As amostras de vírus leste (amostra Tatuí) e oeste (amostra TR 25717) estão mantidas no Instituto Biológico de São Paulo.

Fatores de Risco

Em cada povoado/propriedade rural selecionada foi aplicado um questionário epidemiológico para obter informações referentes ao sexo, idade, raça, manejo sanitário, sistema de criação.

Foi realizada análise univariada, utilizando-se o teste exato de Fisher, a fim de verificar a associação de cada um dos possíveis fatores de risco com a variável dependente (rebanho livre ou infectado por encefalomielite). O nível de significância utilizado foi de 5%, com intervalos de confiabilidade de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo aborda a prevalência das encefalomielites leste e oeste em propriedades rurais da Região dos Lençóis Maranhenses, onde não havia nenhum dado epidemiológico sobre a situação destas enfermidades relatado anteriormente.

Das 443 amostras analisadas, 22,12% (99/443) foram reagentes a EEL e 1,35% (6/443) a EEO. Os municípios de Barreirinhas, Humberto de Campos e Primeira Cruz, apresentaram pelo menos um povoado onde o percentual de animais reagentes para EEL foi igual ou superior a 50%. Os animais reagentes para EEO foram procedentes de apenas dois municípios, Barreirinhas e Humberto de Campos (Tabela 4).

Tabela 4. Frequência de anticorpos anti-EEL e anti-EEO pela reação de soroneutralização de equídeos da região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.

Município	Povoado (ou Fazenda)	N	Animais Reagentes			
			EEL	(%)	EEO	(%)
Barreirinhas	Palmeira dos Ferreiras	16	7	43,75	-	0
	Massangano	34	17	50,00	3	8,82
	Aníbal	36	12	33,33	-	0
	Paú	3	1	33,33	-	0
	Olho D'água dos Necas	5	1	20,00	-	0
	Laranjeiras	23	11	47,83	1	4,35
Humberto de Campos	Marçalina	4	1	25,00	1	25
	Rampa	11	1	9,09	-	0
	Ipê Casco de Burro	2	1	50,00	1	50
	Flexeira	14	3	21,43	-	0
Paulino Neves	Rio Novo	184	19	10,33	-	0
	Marrocos	7	2	28,57	-	0
Primeira Cruz	Alegre	11	4	36,36	-	0
	Morro do Chapéu	3	1	33,33	-	0
	Jatobá	3	2	66,67	-	0
	Bulandeira	3	2	66,67	-	0
Santo Amaro	Malhadinha	49	7	14,29	-	0
	Sede	5	0	0	-	0
Tutóia	Arpoador	30	6	20,00	-	8,82
TOTAL		443	98	22,12	6	1,35

Onde, EEL: encefalomielite equina leste e EEO: encefalomielite equina oeste.

Os dados obtidos sugerem que há a circulação viral na região de estudo e risco premente de infecções em humanos. Segundo Radostits (2002) e Gonçalves (2011), nos Estados Unidos da América (EUA), grandes epizootias de EEO em equinos,

são separados por períodos sem atividade aparente do vírus, logo após esses episódios surgem os casos humanos.

[NC3] Os animais integrantes deste estudo eram provenientes de propriedades do meio rural, o que, segundo Davis Beckham e Tyler (2008), aumenta de forma considerável o risco de infecção. Gonçalves (2011) relata que a incidência dessas duas arboviroses é influenciada principalmente por longos períodos de temperatura elevada, que promovem um aumento na precipitação e criam condições favoráveis para o aumento da população de vetores. A região dos Lençóis Maranhenses apresenta clima tropical úmido com temperatura média de 28°, características favoráveis a multiplicação e manutenção do vetor (gênero *Culex*), que se desenvolve entre 26 e 28° e ainda distribui-se em todo o território nacional, com elevada adaptabilidade tanto em ambiente urbano quanto rural (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; BRASIL, 2011; OLIVEIRA; VASCONCELOS; FROTA, 2011; GUEDES, 2012).

Os focos para as encefalomiélites leste e oeste no Caribe, foram relacionados à ocorrência de pássaros migratórios oriundos do sul. Na região dos Lençóis Maranhenses, foi relatada por Soares (2008) a presença de 12 (doze) espécies de aves migratórias que fazem a rota entre a costa da América do Sul e a América do Norte, local onde há relatos de ocorrência de arboviroses, inclusive envolvendo casos humanos (DAVIS, BECKHAM; TYLER, 2008). Esse dado pode sugerir a existência de um ciclo desconhecido, que pode estar envolvendo essas aves, favorecendo o elevado índice de animais portadores de anticorpos encontrados na pesquisa.

Especificamente para a EEL, a frequência de anticorpos identificada nesta pesquisa, situa-se abaixo dos dados obtidos por Heinemann et al. (2006) no Estado do Pará, Melo et al. (2012) em Mato Grosso e por De Souza et al. (2014) em Minas Gerais. Por outro lado, foram superiores aos estudos realizados por Aguiar et al. (2008) em Roraima, Cunha et al. (2009) na Região Sul de São Paulo e por Ferreira, 2016 em Mossoró no Estado do Rio Grande do Norte (RN).

O resultado referente à frequência da EEO identificada no estudo (1,35%; 6/443) (Tabela 4), este dado é superior aos estudos de Heinemann et al. (2006) que obtiveram 1,05% no Pará e de Ferreira (2016), que obteve frequência de 0,84% em Mossoró/RN.

Nesse estudo, houve um número relativamente maior de mueres reagentes para EEL e EEO em comparação com equinos e asininos, apesar de não haver diferença estatística significativa ($P > 0,05$) das prevalências observadas entre espécies (Tabela 5).

Esse dado corrobora com os achados de Melo et al. (2012) na Amazônia e Pantanal que identificaram maior percentual de muares reagentes. Cunha et al. (2009) em São Paulo encontraram um número 16 vezes maior de muares reagentes em relação as outras espécies pesquisadas.

É importante ressaltar que todos os muares inclusos na pesquisa eram utilizados para trabalho, o que segundo Cunha et al. (2009) é um fator que pode expor o animal ao contato com vetores que fazem parte do ciclo da enfermidade. Araújo et al. (2012) na Paraíba obtiveram um número maior de animais reagentes com aptidão para trabalho o que corrobora com os resultados dessa pesquisa.

Tabela 5. Frequência de anticorpos anti-EEL e anti-EEO pela reação de soroneutralização em equídeos criados na Região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.

Espécie	Número de animais	EEL		Valor de P	EEO		Valor de P
		Reagentes	%		Reagentes	%	
Equinos	304	69	22,7%	0,3220	4	1,3%	0,1920
Asininos	84	9	10,7%		0	0,0%	
Muares	55	20	36,4%		2	3,6%	
Total	443	98	22,12%		6	1,35%	

Onde, EEL: encefalomielite equina leste e EEO: encefalomielite equina oeste.

Em relação ao sexo, para ambas as arboviroses, houve maior percentual de machos reagentes (Tabela 6). Houve diferença estatística significativa entre sexo para a EEL corroborando com Cunha et al. (2009) que obtiveram diferença significativa em relação ao sexo dos animais reagentes.

Tabela 6. Ocorrência de anticorpos anti-EEL e EEO pela reação de soroneutralização segundo o sexo de equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.

Sexo	Número de animais	EEL		Valor de P	EEO		Valor de P
		Reagentes	%		Reagentes	%	
Machos	247	65	26,3%	0,0149	4	1,6%	0,697
Fêmeas	196	32	16,3%		2	1,0%	
Total	443	98	22,12%		6	1,35%	

Onde, EEL: encefalomielite equina leste e EEO: encefalomielite equina oeste.

Referente à faixa etária para a EEL, foi observado maior número de animais reagentes conforme o avançar da idade (11 a 20 anos) com diferença estatística

significativa ($P= 0,0149$) entre a população estratificada, (Tabela 7). Já para a EEO, o maior número de reagentes foi observado na faixa-etária de 11-15 anos, porém sem diferença estatística.

Tabela 7. Frequência de anticorpos anti-EEL e anti-EEO pela reação de soroneutralização, conforme a faixa etária dos equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.

Idade (Anos)	Número de animais	EEL		Valor de P	EEO		Valor de P
		Reagentes	%		Reagentes	%	
0 – 5	189	25	13,2%	<0,0001	1	0,5%	0,6014
6 – 10	170	37	21,8%		3	1,8%	
11 – 15	67	30	44,8%		2	3,0%	
16 – 20	16	5	31,3%		0	0,0%	
> 21	1	1	100,0%		0	0,0%	

Onde, EEL: encefalomielite equina leste e EEO: encefalomielite equina oeste.

É possível inferir que quanto maior a idade do animal, maiores são as possibilidades de contato com o agente. À medida que adquirem mais idade, vão convivendo com outros animais que podem estar infectados. Além disso, na idade adulta os animais estão no ápice das suas atividades produtivas, sendo exigidos ao máximo.

O tipo de vegetação que apresentou o maior número de animais reagentes para EEL foram as regiões de dunas e restinga, seguidas por mata de transição e campos inundáveis e mata de transição. Para EEO, as três vegetações que mais detinham animais reagentes foram dunas e restinga, mata de transição e campos inundáveis (Tabela. 8).

Tabela 8. Ocorrência de equídeos reagentes para EEL e EEO habitando os diferentes tipos de vegetação encontrados na região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017.

Vegetação Predominante	N	Animais Reagentes			
		EEL	(%)	EEO	(%)
Campos inundáveis	54	7	12,96%		0,00%
Campos inundáveis e Dunas	184	19	10,33%		0,00%
Campos inundáveis e Mata de Transição	21	8	38,10%		0,00%
Campos não inundáveis	51	15	29,41%	2	3,92%
Dunas	7	2	28,57%		0,00%
Dunas e Restinga	23	11	47,83%	1	4,35%
Mata de transição	73	30	41,10%	3	4,11%
Total	443	98	22,12%	6	1,35%

Onde, EEL: encefalomielite equina leste e EEO: encefalomielite equina oeste.

Neste trabalho, as variáveis associadas aos riscos da enfermidade ocorrer em determinado local, foram a aquisição de equídeos oriundo de outras regiões; regiões com ocorrência de aglomerações; região naturalmente alagada; presença de aves silvestres; animais com sinais clínicos respiratórios e nervosos (Tabela 9).

A aquisição de equídeos de outras regiões é considerada um fator que desempenha um papel determinante na disseminação de doenças, sobretudo onde há falhas na defesa sanitária animal. Quando se discute o papel do trânsito de animais na disseminação de enfermidades, questiona-se sobre a real falha na DSA, se é a associada ao corpo que a compõe ou a ausência de instrumentos legais ou/e operacionais direcionados para esse tipo de enfermidade. Observou-se que a ocorrência de aglomerações foi relacionada frequência de animais reagentes para EEL, essa variável também pode ser associada a falhas na defesa sanitária, quando se relaciona a ausência de instrumentos legais específicos para cada doença, outro ponto importante é a aproximação de animais de várias localidades distintos dividindo o mesmo espaço.

O fato da relação entre regiões naturalmente alagadas com a frequência da EEL, traz uma percepção sobre a contribuição do ambiente no ciclo da enfermidade, onde pode-se delinear a consideração que engloba a exigência do vetor quanto ao ambiente que favorece sua reprodução e pode perpetuar o agente entre os integrantes da população.

A presença de aves como um fator que se relaciona a frequência da doença alerta e reafirma o fato das mesmas contribuírem para o ciclo da enfermidade como reservatórias, outra consideração seria a presença de aves migratórias nesse local de

estudo, podendo supor inclusive a existência de uma circulação viral entre as américas, já que muitas fazem essa rota migratória ao longo do ano.

Tabela 9. Fatores de risco para o vírus da EEL em equídeos da Região dos Lençóis Maranhenses do estado do Maranhão, 2016.

Variáveis	Encefalomielite Leste						OR	IC 95%	Valor de P	
	Reagentes		Não Reagentes		Total					
	N	%	N	%	N	%				
Regime de Criação Extensivo	Sim	90	22,33%	313	77,67%	403	100%	1,150	0,511;2,585	0,843
	Não	8	20,00%	32	80,00%	40	100%			
Equídeos oriundos de outras Regiões	Sim	50	18,05%	227	81,95%	277	100%	0,541	0,343;0,852	0,009*
	Não	48	28,92%	118	71,08%	166	100%			
Região Naturalmente Alagada	Sim	53	16,61%	266	83,39%	319	100%	0,349	0,218;0,559	<0,001*
	Não	45	36,29%	79	63,71%	124	100%			
Região com ocorrência de aglomerações equídeas	Sim	45	15,73%	241	84,27%	286	100%	0,336	0,231;0,579	<0,001*
	Não	53	33,76%	104	66,24%	157	100%			
Presença de Aves Silvestres	Sim	49	29,52%	117	70,48%	166	100%	1,949	1,237;3,070	0,004*
	Não	49	17,69%	228	82,31%	277	100%			
Presença de outros Animais silvestres	Sim	10	29,41%	24	70,59%	34	100%	1,520	0,700;3,298	0,286
	Não	88	21,52%	321	78,48%	409	100%			
Sinais Respiratórios	Sim	1	0,34%	296	99,66%	297	100%	0,001	0,000;0,0125	<0,001*
	Não	97	66,44%	49	33,56%	146	100%			
Sinais Nervosos	Sim	4	7,02%	53	92,98%	57	100%	0,234	0,082; 0,665	0,001*
	Não	94	24,35%	292	75,65%	386	100%			

(*) Associação significativa ao nível de 5%

CONCLUSÃO

O vírus da EEL apresenta circulação, induzindo uma frequência significativa de anticorpos nos equídeos da região dos Lençóis Maranhenses. Coexiste a circulação viral da EEO, induzindo frequência de anticorpos acima da média encontrada em outras regiões do país. Supõe-se que as características exclusivas do bioma dos Lençóis Maranhenses, em conjunto com manejo diferenciados das espécies de equídeos pesquisadas, favorecem o contato dos mesmos com os vetores destas arboviroses. Ambas são zoonoses, não descartando o risco considerável de infecção humana, uma vez que o ecossistema da região apresenta fatores que contribuem para manutenção dos ciclos das enfermidades.

REFERENCIAS

AGUIAR, D. M., et al. "Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do Município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira: Brazilian Western Amazon." *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 45.4 (2008): 269-276.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de vigilância do *Culex quinquefasciatus* / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Coordenação Francisco Anilton Alves Araújo, Marcelo Santalucia. – 3^a ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de vigilância do *Culex quinquefasciatus* / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Coordenação Francisco Anilton Alves Araújo, Marcelo Santalucia. – 3^a ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011.

CALLEGARI-JACQUES SM. Bioestatística. Princípios e aplicações. São Paulo, SP: Artmed; 2007

CONSOLI, R. A. G. B., and OLIVEIRA, R. L. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Editora Fiocruz, 1994.

CUNHA, E. M. S., et al. "Prevalência de anticorpos contra agentes virais em equídeos no sul do estado de São Paulo." *Arquivos do Instituto Biológico* 76 (2009): 165-71.

DAVIS, L E; BECKHAM, J D & TYLER, K L. North American encephalitic arboviruses. *Neurologic Clinics*. 2008. 26: 727-757.

DE SOUZA, M. C. C., et al. "Inquérito sorológico da infecção pelos vírus da encefalomielite equina no estado de Minas Gerais, Brasil." *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 51.1 (2014): 37-41.

FERREIRA, H. I. P. "Soroepidemiologia de agentes virais de equinos de vaquejada na região de Mossoró/RN." (2016). Dissertação (MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação.

FLORES, E. F. Virologia veterinária. Santa Maria. Ed. UFSM. 2007.

GOLÇALVES, Alex George de Oliveira. Inquérito soropidemiológico dos vírus das Encefalomyelites equinas do leste e do oeste em população de área sob influência do lago da hidrelétrica de Tucuruí - Pará. 2011. 72 f. Dissertação (Mestrado em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2011.

GUEDES, Mário Pessoa. "CULICIDAE (DIPTERA) NO BRASIL: RELAÇÕES ENTRE DIVERSIDADE, DISTRIBUIÇÃO E ENFERMIDADES." *Oecologia Australis* 16.2 (2012): 283-296.

HEINEMANN, M. B., et al. "Soroprevalência da encefalomyelite eqüina do leste e do oeste no Município de Uruará, PA, Brasil." *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 43.supl. (2006): 137-139.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. Municípios, 2010. Disponível em: <<<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=ma>>> Acesso em 15 de Julho de 2017.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção pecuária municipal, 2006. Disponível em: <<<<<<
http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=44>>>>> Acesso em 15 de Julho de 2017.

IMESC, Instituto Maranhense de Estudos Socioeconômicos e Cartográficos. Região dos Lençóis Maranhenses, 2016. Disponível em <<
<http://imesc.ma.gov.br/portal/Post/view/6/13>>>> Acesso em 15 de Julho de 2017.

JOHANN, M.; SPEROTTO, V. Encefalomyelites equinas de origem viral: revisão de literatura. In: XV Mostra de Iniciação Científica UNICRUZ, n.1, 2012. Cruz Alta. Resumos...Cruz Alta: UNICRUZ, p. 49, 2012.

KOTAIT I., BRANDÃO P.E. & CARRIERI M.L. 2006. Vigilância Epidemiológica das Encefalomyelites Equinas. Instituto Pasteur, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, IP/CCD/SES-SP, Ano 3, Número 29.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Equídeos, 2016. Disponível em << <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>>> Acesso em 20 de Abril de 2017.

MELO, R. M., et al. "Ocorrência de equídeos soropositivos para os vírus das encefalomyelites e anemia infecciosa no estado de Mato Grosso." *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo* 79.2 (2012): 169-175.

OLIVEIRA, W. R., E DE VASCONCELOS FROTA, P. "Caracterização sócioambiental do município de Tutóia–Maranhão." *Revista Geográfica de América Central* 2.47E (2011).

RADOSTITS OM, GAY CC, BLOOD DC, HINCHCLIFF KW 2002. Clínica veterinária-Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinose eqüinos, 9th ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1069 pp.

SOARES, Roberta Kelley Pinheiro. Spatial and temporal distribution of water birds at Lake St. Amaro, Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil.. 2008. 40 f. Dissertação (Mestrado em BIOLOGIA) - Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2008.

CAPÍTULO 4: ARTIGO 2

FREQUÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO VÍRUS CAUSADOR DE INFLUENZA EQUINA EM REBANHOS EQUÍDEOS DA REGIÃO DOS LENÇÓIS MARANHENSES

RESUMO

A Influenza equina possui distribuição mundial e é considerada uma das doenças respiratórias mais importantes que acometem equídeos. Além de ocasionar prejuízos econômicos com cancelamento de prova e queda de desempenho, a IE é considerada uma zoonose, sobretudo a cepa H3N8 já foi relatada provocando quadros de doença respiratória aguda no homem e em outras espécies. No Brasil, a OIE relatou cerca de 45 surtos em seis diferentes estados do país em 2009, atualmente a frequência da doença é bastante variável, ocorrendo em diversas regiões do País, com maiores frequências em regiões com temperaturas mais baixas ou com maiores índices pluviométricos. Apesar do Estado do Maranhão deter o quarto maior rebanho de asininos e o terceiro de equinos, do Brasil, pouco se sabe acerca da sanidade desses animais, sobretudo da região dos Lençóis Maranhenses. Destacando-se a importância do conhecimento da ocorrência de determinada doença para o fomento de medidas de prevenção e controle, esse trabalho teve como objetivo identificar a frequência de IE em equídeos na região dos Lençóis Maranhenses. Para tanto, coletou-se amostra de sangue de animais 6 municípios, somando 19 povoados, com 443 animais amostrados, que foram submetidos ao teste de Inibição de Hemaglutinação, com titulação de 1:20 a 1:2560. Dessas amostras, 31,15% (138/443) foram reagentes para a cepa H3N8, entre as espécies reagentes a frequência maior foi de muares com 40,00% (22/55), seguido por equina 30,92% (94/304) e asinina 26,19% (22/84). Os animais que eram utilizados para a finalidade trabalho, tiveram maior frequência de reação com 32,23% (132/422), seguida por esporte 15,38% (2/13). Em relação a idade, houve uma porcentagem maior de animais reagentes na faixa etária de 16 a 20 anos, porém, os animais mais jovens, da faixa de zero a cinco anos, apresentaram títulos maiores de anticorpos. A Influenza Equina, cepa H3N8, encontra-se distribuída nos equídeos da região do Lençóis Maranhenses, com títulos de 1:20 até 1:640 principalmente em animais mais jovens, salientando a necessidade criação de medidas de prevenção e controle para que se evite surtos e o envolvimento de outras espécies inclusive o homem.

Palavras-chave: H3N8; Maranhão; Vaquejada.

ABSTRACT

Equine influenza has a worldwide distribution and is considered one of the most important respiratory diseases affecting equidae. In addition to causing economic losses with cancellation of the test and drop in performance, IE is considered a zoonosis, especially the H3N8 strain has been reported causing acute respiratory disease in humans and other species. In Brazil, the OIE reported about 45 outbreaks in six different states of the country in 2009, currently the frequency of the disease is very variable, occurring in several regions of the country, with higher frequencies in regions with lower temperatures or higher rainfall. Although the State of Maranhão has the fourth largest herd of cattle and the third of horses in Brazil, little is known about the sanity of these animals, especially in the Lençóis Maranhenses region. The objective of this work was to identify the frequency of IE in equidae in the region of Lençóis Maranhenses, highlighting the importance of knowledge of the occurrence of a particular disease to promote prevention and control measures. For this purpose, a sample of blood was collected from 6 municipalities, adding 19 villages with 443 sampled animals, which were submitted to the Hemagglutination Inhibition test, with a titre of 1:20 to 1: 2560. Of these samples, 31.15% (138/443) were reagents for the H3N8 strain, among the reactive species the highest frequency was 40.00% (22/55), followed by equine 30.92% (94 / 304) and asinine 26.19% (22/84). The animals that were used for the purpose of work had a higher frequency of reaction with 32.23% (132/422), followed by sport 15.38% (2/13). In relation to age, there was a higher percentage of reactive animals in the age range of 16 to 20 years, however, the younger animals, from zero to five years, presented higher antibody titers. Equine Influenza, strain H3N8, is distributed in the equidae of the region of Lençóis Maranhenses, with titles from 1:20 to 1: 640 mainly in younger animals, proving the need to create prevention and control measures to avoid outbreaks And the involvement of other species including man.

Keywords: H3N8; Maranhao; Vaquejada

INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho da América Latina e o terceiro mundial, somados a muares e asininos, são 8 milhões de cabeças, movimentando cerca de R\$ 7,3 bilhões, apenas com a produção de cavalos. Este quantitativo distribui-se entre 5.749.117 de equinos, 1.187.419 de asininos, e 1.386.015 muares. A região nordeste conta com a segunda maior população brasileira de equinos, que além de equinos, possui o maior número de asininos e muares. O estado no Maranhão, concentra cerca de 405.605 equídeos, sendo 177.841 equinos, 124.994 asininos, e 102.770 muares. O estado possui o quarto maior rebanho de asininos e terceiro maior de muares no Brasil (IBGE, 2006; MAPA, 2016).

Os equinos são utilizados para atividades distintas como lazer, esportes e até terapia, e continuam sendo os mais utilizados no trabalho das atividades agropecuárias diário, e são usados principalmente, no manejo do gado bovino sendo aproximadamente cinco milhões de animais (MAPA, 2016).

Os equídeos em geral, são destacados pela elevada susceptibilidade a diferentes tipos virais, representando fortes indicadores, ou mesmo sentinelas da circulação de determinados agentes em uma região. As enfermidades têm aumentado nesses animais, em virtude principalmente do trânsito intenso, quando se considera as principais zoonoses virais que acometem essa espécie como as encefalomyelites equinas leste, oeste e venezuelana, raiva, febre do Nilo Ocidental e Influenza Equina, tornando-se imprescindível a realização de estudos epidemiológicos (KOTAIT, 2008).

No ano de 2008, a Organização Mundial de Saúde Animal relatou no Brasil, a ocorrência de 45 surtos de influenza equina em 6 diferentes estados das regiões Sul, Sudeste e Nordeste (OIE, 2009). A IE apresenta distribuição cosmopolita, sendo na maioria das vezes fatal para potros não colostrados, recém desmamados, equinos não vacinados, asnos e animais submetidos a más condições sanitárias e de manejo (RADOSTITS, 2002). Essa é uma das doenças respiratórias mais relevantes nessa espécie, responsável por prejuízos econômicos devido aos surtos, que ocorrem principalmente em animais de competição. A disseminação entre os animais ocorre de forma epidêmica, mediante condições de aglomerações, como exposições, competições e vendas dos equídeos. (OLUSA et al., 2010). A transmissão do vírus ocorre pelo contato direto, inalação de aerossóis de material infectado e fômites. A disseminação

por aerossóis se dá por uma distância de aproximadamente 35 metros, podendo ser aumentada em caso de tosse frequente que pode ocorrer na enfermidade (RADOSTITS, 2002).

De maneira geral, existem poucas informações sobre a sanidade de equídeos na região do Lençóis Maranhenses, e embora determinadas afecções de origem infecciosa sejam bem esclarecidas em outros ecossistemas, é necessário que se conheça suas prevalências em outras localidades afim de que se esclareça a influência de determinados ecossistemas em seu curso. Tendo por objetivo, o estabelecimento de alternativas de profilaxia e controle, baseado no conhecimento da epidemiologia local.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

A pesquisa foi realizada na Região de Planejamento dos Lençóis Maranhenses que é composta por seis Municípios: Barreirinhas; Humberto de Campos; Paulino Neves; Primeira Cruz; Santo Amaro do Maranhão e Tutóia (Figura 5). Caracteriza-se, de forma homogênea, como uma enorme superfície costeira, predominantemente, recoberta por dunas e intercortada por lagoas perenes e sazonais. A região possui um forte potencial turístico, recebendo visitantes do mundo inteiro, sendo esta sua principal fonte de renda. É grande produtora de pescados e de castanha de caju (IMESC, 2016).



Figura 5. Região dos Lençóis Maranhenses, com povoados trabalhados. **Fonte:** IBGE, 2017.

Trata-se de uma área com 10.754,950 Km² e 176.200 habitantes, sendo: 64.085 (36,37%) de população urbana e 112.115 (63,63%) de população rural, onde encontram-se distribuídos cerca de 6.239 equídeos, sendo: 1.774 (28,43%) asininos; 3.241 (51,95%) equinos e 1.224 (19,62%) muares, distribuídos em 3.558 propriedades rurais (IBGE, 2006; IBGE 2010).

A maior parte dos equídeos desta região, pertencem a pequenos produtores rurais que, diariamente, utilizam seus animais para o trabalho à campo (“lida do gado”), contudo, uma parte deste rebanho, periodicamente, também é utilizada para a prática de esportes: vaquejada nos municípios Barreirinhas, Paulinho Neves e Tutóia e corrida de prado (ou “canha reta”) nos municípios Humberto de Campo, Primeira Cruz e Santo Amaro. Estes eventos, em sua maioria, acontecem em pequenos parques e pistas localizados em povoados distantes das sedes dos referidos municípios e, geralmente, são organizados por associações locais de cavaleiros e possuem uma abrangência apenas regional.

Nesta região não se tem observada a prática de vacinação contra as doenças pesquisadas ou contra quaisquer outras.

Seleção de Propriedades

Primeiramente faz-se necessário esclarecer que, em defesa agropecuária, o conceito de “propriedade rural” não se limita ao convencional, ou seja, não é apenas um terreno cercado, onde se pratica alguma atividade agropecuária, como, fazendas, sítios ou ranchos, mas, muito mais do que isto, propriedade é uma unidade epidemiológica que pode se constituir de uma ou mais unidades de criação (ou de produção) que estão submetidas aos mesmos riscos sanitários. Desta forma, também se enquadram neste novo conceito, outros complexos rurais como: povoados; assentamentos ou até as sedes dos municípios do interior onde, geralmente, não se tem nas residências uma área para criação, por exemplo, e todos os animais da sede costumam pastar em áreas comuns, como: campos inundáveis; matas de cocais ou florestas de mangue.

O número, a distribuição e a escolha das propriedades amostradas ocorreram de forma totalmente aleatória, sendo visitada pelo menos uma por município. As visitas ocorreram em paralelo com os atendimentos diversos do Serviço Veterinário Oficial (SVO), demandados às equipes da Unidade Veterinária Local (UVL) de Barreirinhas, que possuem jurisdição na região pesquisada. Desta forma, foram trabalhadas 19 (dezenove) propriedades, sendo: seis em Barreirinhas; quatro em Humberto de Campos

(uma delas, a única fazenda do estudo); duas em Paulino Neves; quatro em Primeira Cruz; duas em Santo Amaro do Maranhão e uma em Tutóia.

Delineamento Amostral

Em consequência da estratégia utilizada na escolha das propriedades, o número, a distribuição e a seleção dos equídeos também ocorreu de maneira aleatória. Foram amostrados 443 equídeos entre os seis municípios e as três espécies pesquisadas, calculado por meio da fórmula proposta por Callegari-Jacques (2007), se considerou o tamanho da população ($N = 6.239$), o erro amostral tolerável ($E0 = 5\%$) e a estimativa do tamanho da amostra ($n0 = 400$). Foram encaminhadas 443 amostras para diagnóstico, sendo 84 (18,96%) de asininos; 304 (68,62%) de equinos e 55 (12,42%) de muares, distribuídos, por municípios e propriedades (Tabela 9).

Tabela 10. Número de amostras coletadas, distribuídas por municípios e povoados da Região dos Lençóis Maranhenses.

Município	Povoado (ou Fazenda)	Número de Amostras Coletadas			
		Asininos	Equinos	Muares	Total
Barreirinhas	Palmeira dos Ferreiras	02	14	0	16
	Maçangano I	0	20	14	34
	Aníbal	01	27	08	36
	Paú	0	03	0	03
	Olho D'água dos Necas	0	04	01	05
	Laranjeira	0	22	01	23
Humberto de Campos	Marçalina	0	04	0	04
	Rampa	04	07	0	11
	Faz. Ipê Casco de Burro	0	02	0	02
	Flexeira	04	10	0	14
Paulino Neves	Rio Novo	63	107	14	184
	Marrocos	0	07	0	07
Primeira Cruz	Alegria	04	05	02	11
	Morro do Chapéu	0	03	00	03
	Jatobá	0	02	01	03
	Bulandeira	0	0	03	03
Santo Amaro	Malhadinha	03	38	08	49
	Sede	0	05	0	05
Tutóia	Arpodador	03	24	03	30
TOTAL		84	304	55	443

Coleta de Dados

Os criadores foram sensibilizados através de palestra, na qual informou-se sobre a Influenza Equina, e a importância da pesquisa em relação à sanidade. Em seguida, os mesmos autorizaram, através da assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido que assegurava o sigilo das informações relatadas, a submissão dos animais a avaliação clínica, coleta de material, e o uso das informações obtidas.

Os animais foram avaliados clinicamente, realizando-se principalmente a inspeção de mucosas oral e nasal, auscultação da frequência respiratória e aferição da temperatura corpórea. Os dados clínicos foram registrados individualmente, objetivando-se identificar sinais clínicos compatíveis com doenças respiratórias.

Coleta e Processamento de Amostras

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (CEEV/CMV/UEMA) sob protocolo nº09/2016 em 8 de Julho de 2016. [c4]

Foram coletadas amostras de sangue em duplicata, sendo 10 (dez) ml de cada animal, através da punção da veia jugular, utilizando-se o sistema de coleta a vácuo. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente com ângulo de 45° até ocorrer a formação e retração de coágulo. Logo após, foram armazenadas sob refrigeração e encaminhadas aos escritórios da Agência Estadual de Defesa Agropecuária (AGED) de Barreirinhas e de Humberto de Campos, onde foram centrifugadas e armazenadas em freezer a -20°C. Ao final das coletas, as amostras foram levadas sob refrigeração em caixas térmicas ao Laboratório Cernitas, em São Luís, Maranhão.

Diagnóstico Laboratorial

Obtenção de sangue de galo



Figura 6. Coleta de sangue de *Gallus gallus domesticus* (galo doméstico) para obtenção de hemácias. **Fonte:** Autor, 2016.

Para a inativação das amostras, fez necessário a obtenção de hemácias de um macho da espécie *Gallus gallus domesticus* (Figura 6). O animal originou-se de um criatório certificado, e durante todo o período da pesquisa, permaneceu em uma gaiola de 1 m³, distante de qualquer tipo de criação de animais domésticos ou silvestres. ~~A coleta de sangue do mesmo, ocorreu no laboratório, seguindo-se 3 (três) etapas, onde coletou-se 10 ml de sangue por etapa, através da punção das veias da parte interna das asas~~ Colheu-se 10mL de sangue em 10mL de Alsever, anticoagulante esse, constituído por dextrose, (20,5g), citrato de sódio dihidratado (Na₃C₆H₅O₇ x 2H₂O - 8 g), cloreto de Sódio (NaCl - 4,2 g), ácido cítrico (C₆H₈O₇ - 0,55g), água q.s.p. (H₂O - 1000 mL), com pH final de 6,1, após filtragem com milipore 0,22 µm (WHO, 2011).

Concentrado de hemácias de galo

Realizou-se a lavagem da suspensão de sangue em solução de Alsever (WHO, 2011), conforme o seguinte procedimento:

- Em tubo de ensaio, acrescentou-se 10 mL da suspensão de sangue e Alsever.
- Centrifugou-se por 10 minutos a 3.000g/min ~~sob refrigeração a 10°C.~~
- Descartou-se o sobrenadante por inversão e adicionou-se 7 mL de PBS 0,01M, pH 7,2. Homogeneizou-se levemente.
- Repetiu-se ~~3~~ três vezes os passos b e c.

4.6.1.3 Obtenção da suspensão de hemácias a 0,5%

Para se obter a suspensão ~~á~~ a 0,5% foi utilizado o concentrado de hemácias pré-lavado (item 4.6.1.2), onde a cada 19,9 mL de solução PBS 0,01M pH 7,2, foram adicionados 100 µL de concentrado de hemácias e acondicionado a 4°C até seu uso. O período máximo de uso da suspensão de hemácias a 0,5% foi de ~~5~~ cinco dias.

Inativação-Preparação das Amostras

As amostras foram ~~submetidas a~~ inativadas em banho maria ~~á~~ a 56°C por trinta minutos; logo após, foram diluídos 125 µL de cada soro em 500 µL de PBS e adicionou-se a esta diluição, 625 µL de caulim a 20%. Deixou-se essa mistura em repouso por ~~por~~ vinte minutos, realizando-se a homogeneização a cada cinco minutos, e logo depois ~~centrifugou-se~~ foram centrifugadas a 2.000 rpm por trinta minutos. A última etapa, consistiu-se na adição, homogeneizando com muito cuidado, de 50 µL de papa de hemácia ~~(já lavada)~~, deixando-se por uma hora no refrigerador, e logo após, ~~centrifugando~~ foram centrifugadas novamente a 2.000 rpm por trinta minutos obtendo-se por fim, os soros tratados e diluídos (125:1250 ou 1:10). Foi realizado desde o processo de obtenção das hemácias de galo, até a etapa de preparo das amostras, no laboratório Cernitas, e em seguida foram encaminhadas para o Instituto Biológico em São Paulo.

Teste de Hemaglutinação

Para a pesquisa de anticorpos contra o vírus da IE A/Eq2 foi utilizado o Teste de Inibição de Hemaglutinação (HI). Este teste é realizado em placas de poliestireno de 96 cavidades, com fundo em “U” (LOUREIRO et al., 2002). Diluições crescentes do soro (fator de diluição 10) foram incubados por uma hora à temperatura ambiente com quatro unidades hemaglutinantes (UHA) do vírus. Em seguida, ~~é~~ foi adicionada a suspensão de hemácias de galo (1% em PBS) e, após incubação por 30min a 4°C, procedeu-se a leitura. O título de anticorpos ~~é~~ considerado foi a recíproca da maior diluição do soro capaz de inibir a hemaglutinação (OIE, 2012).

Fatores de Risco

Em cada povoado/propriedade rural selecionada foi aplicado um questionário epidemiológico para obter informações referentes ao sexo, idade, raça, manejo sanitário, sistema de criação.

Foi realizada análise univariada, utilizando-se o teste exato de Fisher, a fim de verificar a associação de cada um dos possíveis fatores de risco com a variável dependente (rebanho livre ou infectado por encefalomielite). O nível de significância utilizado foi de 5%, com intervalos de confiabilidade de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 443 equídeos submetidos ao teste de hemaglutinação, 138 (31,2%) apresentaram anticorpos para Influenza Equina, subtipo H3N8. Os municípios de Barreirinhas e Tutóia foram os que apresentaram o maior número de povoados com animais reagentes.

Tabela 11. Ocorrência de anticorpos ~~para~~ para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, segundo o município de origem com as respectivas titulações, em equídeos pertencentes à região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017. ~~em microplacas,~~

Município	Povoado (ou Fazenda)	Número de Animais	Neg	Reag	(%)
Barreirinhas	Palmeira dos Ferreiras	16	0	16	100,00
	Maçangano I	34	9	25	73,53
	Aníbal	36	28	8	22,22
	Paú	3	0	3	100
	Olho D'água dos Necas	5	2	3	60,00
	Laranjeira	23	18	5	21,74
Humberto de Campos	Marçalina	4	4	0	0,00
	Rampa	11	11	0	0,00
	Faz. Ipê Casco de Burro	2	2	0	0,00
	Flexeira	14	13	1	7,14
Paulino Neves	Rio Novo	184	140	44	23,91
	Marrocos	7	7	0	0,00
	Alegria	11	11	0	0,00
Primeira Cruz	Morro do Chapéu	3	3	0	0,00
	Jatobá	3	3	0	0,00
	Bulandeira	3	3	0	0,00
	Malhadinha	49	33	16	32,65
Santo Amaro	Sede de Santo Amaro	5	3	2	40,00
	Arpoador	30	15	15	50,00
Tutóia	Arpoador	30	15	15	50,00
TOTAL		443	305	138	31,15

Em relação a idade dos animais, houve um número maior de reagentes na faixa etária entre 16 e 20 anos, o que pode ser explicado pelo fato de possuírem uma chance maior de contato com o vírus. Em contrapartida, a maioria dos animais que apresentaram níveis elevados de anticorpos, eram animais jovens, com títulos de até 1:640. Segundo Tizard (2002), há uma estratégia viral de se manter em uma

determinada população, através da infecção de animais jovens susceptíveis, onde ocorrerá níveis elevados de anticorpos por se tratar de primo infecção pelo agente viral.

Tabela 12. Ocorrência de anticorpos para para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, com relação a idade, em equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017. *em microplacas,*

Idade	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Número de Animais	Neg.	Reag.	≥1:80 %
0 – 5	17	14	7	5	3	3	189	140	49	36,73
6 – 10	24	13	7	8	3	1	170	114	56	33,93
11 – 15	13	4	2	3	3	1	67	41	26	34,62
16 – 20	2	4	0	1	0	0	16	9	7	14,29
21 – 25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26 – 30	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Total	56	35	16	17	9	5	443	305	138	34,06

Houve o predomínio de muares (40,0%) em relação aos animais reagentes, segundo a espécie (Tabela 12). Esse resultado divergiu do encontrado por Silva et al., em 2014 no Pantanal, que obteve um predomínio de equinos positivos para IE.

Tabela 13. Ocorrência de anticorpos para para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, com relação a finalidade, em equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017. *em microplacas,*

Espécie	Número de animais	Número de		%
		Negativos	Reagentes	
Equina	304	210	94	30,9%
Asinino	84	62	22	26,2%
Muar	55	33	22	40,0%
Total	443	305	138	31,2%

Em relação ao sexo, houve uma diferença de apenas 0,8%. (Tabela13). Silva et al., (2014) encontraram diferença de 10% entre sexo, enquanto Diel et al., (2006) encontraram uma diferença de apenas 0,2%.

Tabela 14. Ocorrência de anticorpos para para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, com relação ao sexo, em equídeos pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017. *em microplacas,*

Sexo	Número de Animais	Número de		%
		Negativos	Reagentes	
Fêmeas	196	134	62	31,6%
Machos	247	171	76	30,8%

Total	443	305	138	31,2%
--------------	-----	-----	-----	-------

Com relação a finalidade, observou-se o predomínio de animais reagentes, alocados na categoria trabalho (32,2%) (Tabela 14). Essa categoria prevaleceu também, quando foi analisado o número de animais reagentes que apresentaram sinal clínico sugestivos de Influenza Equina que foi de 3,62% (5/138). Esse é um fator preocupante, uma vez que há uma frequente e estreita relação dessa categoria com seus proprietários e demais animais de companhia. A cepa H3N8 já foi relatada ocasionando enfermidade em outros mamíferos, onde o equídeo foi realocando de um portador final, para um portador passível de perpetuar o agente para outros animais (KIRKLAND et al., 2010).

Tabela 15. Ocorrência de anticorpos ~~para~~ para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, com relação a finalidade, em equídeos p pertencentes a região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017 ~~em microplacas~~.

Finalidade	Número de Animais	Número de			%
		Negativos	Reagentes		
Trabalho	422	286	136	32,2%	
Esporte	13	11	2	15,4%	
Lazer	8	8	0	0	
Total	443	305	138	31,2%	

Em relação a presença de animais reagentes em povoados que ocorrem aglomerações, como vaquejadas e corridas, notou-se que a porcentagem de animais reagentes foi superior, principalmente os que ocorrem vaquejadas (Tabela 15). Vale ressaltar que principalmente em vaquejadas, utiliza-se animais jovens, na mesma faixa etária de zero a cinco anos que foi descrita nesse estudo, como uma das que ocorreu a maior porcentagem de animais com títulos altos de anticorpos. Esse fator implica na manutenção do vírus na população, principalmente quando estes, sem imunidade prévia, entram em contato com o vírus e desenvolvem os sinais clínicos tornando-se fonte de infecção a partir de fômites.

Tabela 16. Ocorrência de anticorpos ~~para~~ para Influenza Equina pela reação de hemaglutinação, em equídeos alocados próximo a locais com e sem aglomerações na região dos Lençóis Maranhenses, Maranhão, Brasil, 2017 ~~em microplacas~~.

Aglomerações	Povoados	Total	(%)
Corrida	Sede, Santo Amaro	65	18
	Malhadinha		
Vaquejada	Rampa	221	72
	Paú		
	Maçangano I		
	Rio Novo		
Sem Aglomerações	Palmeira dos Ferreiras	157	48
	Olho D'água dos Necas		
	Arpoador		
	Aníbal		
	Laranjeira		
	Fazenda Ipê Casco de Burro, Prata		
	Flexeira		
	Marçalina		
	Marrocos		
	Alegria		
	Bulandeira		
Jatobá			
Morro do Chapéu			
Total	443	138	

As variáveis que foram relacionadas como fator de risco para a IE foram fatores de risco associados para frequência de Influenza Equina

Os fatores de risco apontados por esse estudo foram o regime de criação extensivo e regiões que ocorrem aglomerações. As criações extensivas são um desafio sanitário, não havendo controle sobre o contato das criações com os animais silvestres que nos mais diversos ecossistemas albergam patógenos desconhecidos. Quando considera-se as aglomerações como vaquejadas, corridas e bolões, como um fator de risco, observa-se as vertentes de DSA, apontando-se falhas quando se considera medidas específicas de conduta e legislação para inúmeras doenças que são zoonoses, como a IE, além disso permeia o fato de muitos eventos ocorrerem sem o conhecimento dos órgãos responsáveis e por seguinte, fiscalização dos órgão responsáveis. A clandestinidade na realização desses eventos é um ponto crítico, animais reunidos de com inúmeras origens, sem nenhuma exigência legal de atestado sanitário é uma implicância sanitária sem igual.

Tabela 17. Fatores de risco para o vírus da Influenza Equina A equi 1 (H3N8) em equídeos da Região dos Lençóis Maranhenses do Estado do Maranhão, 2016.

Variáveis		Influenza Equina						OR	IC 95%	Valor de P
		Reagentes		Não Reagentes		Total				
		N	%	N	%	N	%			
Regime de Criação Extensivo	Sim	135	33,50%	268	66,50%	403	100%	6,213	1,881;20,522	<0,0003*
	Não	03	7,50%	37	92,50%	40	100%			
Equídeos oriundos de outras Regiões	Sim	78	28,16%	199	71,84%	277	100%	0,692	0,459;1,044	0,091
	Não	60	36,14%	106	63,86%	166	100%			
Região Naturalmente Alagada	Sim	101	31,66%	218	68,34%	319	100%	1,089	0,693;1,711	0,733
	Não	37	29,84%	87	70,16%	124	100%			
Região com ocorrência de aglomerações equíneas	Sim	90	31,47%	196	68,53%	286	100%	1,403	0,684;1,589	0,914
	Não	48	30,57%	109	69,43%	157	100%			
Presença de Aves Silvestres	Sim	80	48,19%	86	51,81%	166	100%	3,512	2,307;5,347	<0,0001*
	Não	58	20,94%	219	79,06%	277	100%			

CONCLUSÃO

A Influenza Equina, cepa H3N8, encontra-se distribuída nos equídeos da região do Lençóis Maranhenses, com títulos de 1:20 até 1:640 principalmente em animais mais jovens, salientando a necessidade criação de medidas de prevenção e controle para que se evite surtos e o envolvimento de outras espécies inclusive o homem.

REFERENCIAS

CALLEGARI-JACQUES SM. Bioestatística. Princípios e aplicações. São Paulo, SP: Artmed; 2007

DIEL, D. G., et al. "Prevalência de anticorpos contra os vírus da influenza, da arterite viral e herpesvírus em equinos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil." *Ciência Rural* 36.5 (2006).

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. Municípios, 2010. Disponível em: <<<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=ma>>> Acesso em 15 de Julho de 2017.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção pecuária municipal, 2006. Disponível em: <<<<<<
http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=44>>>>> Acesso em 15 de Julho de 2017.

IMESC, Instituto Maranhense de Estudos Socioeconômicos e Cartográficos. Região dos Lençóis Maranhenses, 2016. Disponível em <<
<http://imesc.ma.gov.br/portal/Post/view/6/13>>>> Acesso em 15 de Julho de 2017.

KIRKLAND, P. D., FINLAISON, D. S., CRISPE, E., & HURT, A. C. (2010). Influenza virus transmission from horses to dogs. *Australia. Emerging infectious diseases*, 16(4), 699.

KOTAIT, I., et al. Programa de vigilância de zoonoses e manejo de equídeos do estado de São Paulo: módulo II: principais zoonoses virais de equídeos e vigilância epidemiológica em unidades municipais. *BEPA, Boletim Epidemiológico Paulista (Online)* [online]. 2008, vol.5, n.54, pp. 18-26. ISSN 1806-4272.

LOUREIRO, B. O. et al. "Soroepidemiologia da Influenza equina, subtipo A/Equino-2 (H3N8) no Estado do Rio de Janeiro. " *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.24, n.1, p.11-13, 2002.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Equídeos, 2016. Disponível em << <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>>> Acesso em 20 de Abril de 2017.

OFFICE INTERNATIONALDES EPIZOOTIES. Animal Disease Information. 2012. Disponível em: <<http://www.oie.int>>. Acessado em 15 de Janeiro 2017.

OIE, World Organization for Animal Health. World Animal Health Information Database (WAHID) Interface. Equine Influenza (2009). Disponível em: <<http://www.oie.int/wahis/public.php>>. Acesso em 20 de junho de 2017.

OFFICE INTERNATIONALDES EPIZOOTIES. Animal Disease Information. 2012. Disponível em: <<http://www.oie.int>>. Acessado em 30 Janeiro 2017.

OLUSA, T. A. O.; ADEGUNWA, A. K.; ADERONMU, A. A.; ADEYEFA, C. A. O. Serologic evidence of equine H7 Influenza virus in polo horses in Nigeria. *Science World Journal*, v. 5, n. 2, p. 17-19, 2010.

RADOSTITS OM, GAY CC, BLOOD DC, HINCHCLIFF KW 2002. Clínica veterinária-Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinose eqüinos, 9th ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1069 pp.

SILVA, L. G. E., BORGES, A. M. C. M., VILLALOBOS, E. M. C., LARA, M. D. C. C. S., CUNHA, E. M. S., OLIVEIRA, A. C. S. D., ... & AGUIAR, D. M. (2014). Prevalence of antibodies against influenza virus in non-vaccinated equines from the Brazilian Pantanal. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56(6), 487-492.

TIZARD, I. R. Imunologia veterinária: uma introdução. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002. 364 p.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global influenza surveillance network: Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. *Genebra*: WHO, 2011. 153 p.

CAPÍTULO 5: CONSIDERAÇÕES FINAIS

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embasado em todo estudo realizado sobre estas duas doenças e os dados gerados pela mesma, entende-se que o SVO federal e estadual, devem direcionar mais atenção às medidas de controle relacionadas a outras doenças de equídeos, além de AIE e mormo, pois assim como o mormo, estamos tratando também de zoonoses, caracterizado como um problema de saúde pública, quando nos referimos a influenza e encefalomielite leste e oeste equina.

As instituições de ensino, com atenção as universidades, deveriam fomentar cada vez mais pesquisas na graduação e pós-graduação em biomas exclusivos e pouco explorados como o existente na região dos Lençóis Maranhenses. Pois essa região é maciçamente e constantemente visitada por turistas do mundo inteiro, fazendo-se necessário seja uma região bem mais explorada, do ponto de vista epidemiológico.

Para tanto, relaciona-se abaixo, algumas sugestões com suas respectivas justificativas, com o intuito de embasar as afirmativas supracitadas:

1. Elaboração, pelo Serviço Veterinário Oficial (SVO) estadual, de um formulário de cadastro das equideoculturas, pois todo programa sanitário começa por esta base de dados, fundamental para planejar, quantificar e mensurar metas;
2. Elaboração, pelo SVO estadual de um calendário estadual sugestivo de vacinações contra doenças de equídeos, respeitando a sazonalidade de cada doença relacionada;
3. Incremento das fiscalizações de locais de aglomerações de equídeos (parques de vaquejada, haras e centros de treinamento, por exemplo), bem como das fiscalizações de trânsito destas espécies, que geralmente só ocorre, a contento, em épocas de eventos agropecuários;
4. Criação, pela presidência da AGED-MA, do Programa Estadual de Sanidade dos Equídeos – PESE, para que as portarias estaduais relativas a qualquer procedimento de controle sanitário de doenças em equídeos tenha fundamentação técnica e jurídica;
5. Convocação, pela AGED-MA, de todas as entidades interessadas em sanidade de equídeos, para a criação da Comissão Estadual de Sanidade dos Equídeos - CESE, proposta que outrora veio à tona, em substituição à falida CECAI – Comissão Estadual de Controle da AIE, e que tinha como objetivo discutir

- medidas de prevenção e controle sanitário de todas as doenças de equídeos, não apenas da AIE;
6. Elaboração, pela Presidência da AGED-MA, de uma portaria obrigando o médico veterinário autônomo, que é cadastrado no órgão, a comunicar mensalmente as vacinações realizadas, bem como os resultados dos exames requeridos por ele. Esta comunicação poderia ser feita em formulário próprio, a ser construído pelo órgão, ou através de um formulário padronizado pelo MAPA, FEPI – Ficha Epidemiológica Mensal (Anexo 1), que já é utilizado por autônomos que são habilitados para emissão de GTA. Esta informação auxiliaria o SVO estadual a monitorar como a doença anda se comportando nas diferentes regiões do estado, considerando a necessidade de prevenção;
 7. Preparação, pelo SVO estadual, de uma cartilha voltada para o público criador, com uma linguagem de fácil compreensão, contendo informações sobre as principais doenças dos equídeos e nesta já inserir o calendário de vacinação supracitado;
 8. Realização, pelo SVO estadual, de cursos voltados à coleta de material para diagnóstico de doenças equíneas, e, elaboração de protocolos de atendimento a focos para cada doença relacionada;
 9. Construção e habilitação de um laboratório estadual, do próprio SVO estadual ou das universidades, em parceria com o SVO estadual, a fim de que se permita a realização de diagnósticos laboratoriais para a conclusão das investigações de doenças realizada pelo próprio SVO estadual e/ou para fomentar pesquisas universitárias na área de saúde animal;
 10. Incentivo, pelas universidades e parceiros, à realização de novos projetos de pesquisa na área de sanidade equina, a fim de que outras doenças importantes como garrotilho, adenovírus e herpesvírus, por exemplo, também sejam estudadas;
 11. Criação, pelo governo do estado, de um fundo para financiar as pesquisas voltadas ao melhoramento das ações de defesa sanitária animal, bem como a liberação de licença com vencimento para os funcionários que desejarem desenvolver pesquisas neste sentido, entendendo que estas, direta ou indiretamente, trarão crescimento para a economia do estado e/ou benefícios à saúde da população maranhense.

12. Elaboração, pela Presidência da AGED-MA, de uma portaria obrigando a comprovação da vacinação de equídeos contra influenza, através da apresentação de um atestado de vacinação, padronizado por esta, como condicionante para emissão de guias para trânsito intra e interestadual, considerando a alta morbidade da influenza, sobretudo em aglomerações animais e o fato de que a vacina contra esta doença ainda é a melhor forma de preveni-la. A exemplo deste procedimento, podemos citar a Portaria/IAGRO/MS nº 3.573, de 04 de julho de 2017 (IAGRO, 2017) (ANEXO II) que, além de estabelecer esta obrigatoriedade, padroniza um modelo de atestado e
13. Verificação, pelo SVO estadual e pelo MAPA, da possibilidade de ser criado um novo sítio de aves migratórias na região dos Lençóis Maranhenses, para que seja possível iniciar o monitoramento destas aves, como proposta de prevenção da introdução neste estado e país de todos os tipos de influenza.

REFERÊNCIAS

IAGRO, Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal, Mato Grosso do Sul. Em MS atestado de vacinação contra Influenza Equina é obrigatória para transportes de animais. **Disponível em:** << <http://www.iagro.ms.gov.br/em-ms-atestado-de-vacinacao-contrainfluenza-equina-e-obrigatoria-para-transportes-de-animais/> >>. **Acesso em:** 17 de Julho de 2017.

APÊNDICE 1

AVALIAÇÃO CLÍNICA PARA INFLUENZA (GRIPE) E ENCEFALOMIELITE (MAL DA RODA) EQUINA

CÓDIGO DA PROPRIEDADE: _____ (LETRA)
ORDEM DA COLETA: _____

Nº. DE

1) Sintomas ou Sinais clínicos para Influenza Equina (Gripe):

SINTOMAS OU SINAIS CLÍNICOS	OBSERVADOS ANTES DA COLETA
AUMENTO DOS LINFONODOS DA CABEÇA	
HIPERTERMIA (ACIMA DE 40°C)	
ANOREXIA	
DEPRESSÃO	
FRAQUEZA	
EDEMA DOS MEMBROS	
LAMINITE	
ERUPÇÕES DE PELE CAUSADAS POR PICADURAS DE INSETOS HEMATÓFAGOS	
PRESENÇA DE ECTOPARASITAS	
TOSSE SECA, SEVERA E NÃO PRODUTIVA	
DESCARGA NASAL SEROSA	
DESCARGA NASAL MUCOPURULENTA (INFEÇÃO SECUNDÁRIA)	
DESCARGA LACRIMAL	
DISPNÉIA	
ESTERTORES	
SIBILOS	

APÊNDICE 2

	UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA SANITÁRIA ANIMAL									
PESQUISA DE ANTI-VÍRUS CAUSADORES DE INFLUENZA E ENCEFALOMIELITE EQUINA EM REBANHOS EQUÍDEOS DA REGIÃO DOS LENÇÓIS, MARANHÃO										
EXAME(S): INIBIÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO (HI) PARA IEV (A/Eq D) E SORONEUTRALIZAÇÃO (SN) PARA EEV (EEL E EEO).										
NOME DA PROPRIEDADE:			()			GPS:				
<i>LETRA</i>										
ENDEREÇO DA PROPRIEDADE:					MUNICÍPIO:					
NOME DO PROPRIETÁRIO:						TELEFONE:				
NOMES DO MÉD. VETERINÁRIO / TÉCNICO(S) AUXILIARE(S):							DATA DA COLETA:			
No. ORD.	ESPÉCIE	RAÇA	SEXO	IDADE (A)	PELAGEM	ATIVIDADE	SINTOMAS		OBSERVAÇÃO	
							GRIFE	M. RODA		
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										

APÊNDICE 3

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE DOENÇAS DE EQUÍDEOS

CÓDIGO DA PROPRIEDADE: _____(LETRA)

SOBRE O ENTREVISTADO

- 1) Classificação:
 - a) Criador ()
 - b) Cônjuge ou Parente do criador ()
 - c) Funcionário da propriedade ()
 - d) Outra: _____

- 2) Idade:
 - a) Entre 16 – 24 anos ()
 - b) Entre 25 - 39 anos ()
 - c) Entre 40 – 59 anos ()
 - d) Mais de 60 anos ()

- 3) Escolaridade:
 - a) Analfabeto - Funcional ou não ()
 - b) 1º. Grau – Completo ou não ()
 - c) 2º. Grau – Completo ou não ()
 - d) 3º. Grau – Completo ou não ()

SOBRE A PROPRIEDADE

- 4) Áreas da Propriedade:
 - a) Total (ha): _____
 - b) De pastejo dos equídeos (ha): _____
 - c) Das instalações dos equídeos (m²): _____

- 5) Vegetação Predominante:
 - a) Campos inundáveis ()
 - b) Campos não inundáveis ()
 - c) Dunas ()
 - d) Mangues ()
 - e) Mata ciliar ()
 - f) Mata de transição ()
 - g) Mata dos cocais ()
 - h) Restinga ()

- 6) Outras Explorações Pecuárias (PODE SER MARCADA MAIS DE UMA OPÇÃO):
 - a) Aves domésticas ()
 - b) Aves silvestres ()
 - c) Ruminantes ()
 - d) Suínos domésticos ()

- e) Suínos silvestres ()
- f) Outros animais silvestres ()
- g) Outra: _____

7) Tipos de Instalações Existentes (PODE SER MARCADA MAIS DE UMA OPÇÃO):

- a) Baias coletivas de alvenaria ()
- b) Baias coletivas de madeira ()
- c) Baias individuais de alvenaria ()
- d) Baias individuais de madeira ()
- e) Curral ou Cercado com cobertura()
- f) Curral ou Cercado sem cobertura()
- g) Outra: _____

SOBRE A CRIAÇÃO DE EQUÍDEOS

8) Tipo de Exploração:

- a) Confinada ()
- b) Semi-confinada ()
- c) Extensiva ()
- d) Ultra-extensiva ()

9) Finalidade Principal da Criação dos Equinos:

- a) Esporte ()
- b) Lazer ()
- c) Reprodução ()
- d) Trabalho ()
- e) Outra: _____

10) Raças dos Equinos (PODE SER MARCADA MAIS DE UMA OPÇÃO):

- a) “Nativo” ()
- b) Mestiço ()
- c) Quarto de Milha ()
- d) SRD ()
- e) Outra: _____

11) Origem dos Equídeos (PODE SER MARCADA MAIS DE UMA OPÇÃO):

- a) Nascidos na propriedade ()
- b) Da mesma localidade ()
- c) Do mesmo município ()
- d) De outro município da Região dos Lençóis ()
- e) De outro município do Estado ()
- f) De outro Estado ()

12) Quantidade de Equídeos da Propriedade:

ESPÉCIES	EQUINA	MUAR	ASININA
FAIXA ETÁRIA			
FÊMEAS ATÉ 6 MESES			
FÊMEAS COM MAIS DE 6 MESES			
MACHOS ATÉ 6 MESES			
MACHOS COM MAIS DE 6 MESES			
TOTAL DE CABEÇAS			

13) Últimas Movimentações:

MOVIMENTAÇÃO		DATA (DD/MM/AA)	PROCEDÊNCIA OU DESTINO	
ENTRADA	SAÍDA		MUNICÍPIO	UF

14) Alimentação Fornecida (PODE SER MARCADA MAIS DE UMA OPÇÃO):

- a) Concentrados adquiridos no comércio ()
- b) Concentrados preparados na propriedade ()
- c) Forragem plantada ()
- d) Pastagem natural ()
- e) Outras: _____

15) Manejo Reprodutivo:

- a) Monta natural ()
- b) Não reproduz ()
- c) Outro: _____

16) Práticas Sanitárias (PODE SER MARCADA MAIS DE UMA OPÇÃO):

- a) Suplementos ()
- b) Vermífugo ()
- c) Exames laboratoriais () → AIE () → Mormo ()
- d) Outra: _____

17) Em caso de doença, quem costuma procurar:

- a) AGED-MA ()
- b) Aplica medicação por conta própria ()
- c) Prático da Região ()
- d) Técnico da Região ()
- e) Veterinário da Região ()

f) Outra: _____

18) Principais doenças ou problemas sanitários que acometem seus equídeos e em que época(s) costumam ocorrer:

Local: _____

Data: _____/_____/2016

Nome do entrevistador:

Assinatura do entrevistador:

APÊNDICE 4 - TERMO DE CONSENTIMENTO

Sr (a) Criador(a),

Estamos fazendo uma pesquisa sobre duas importantes doenças que podem afetar seus cavalos, burros e jumentos causando sintomas respiratórios e nervosos que podem evoluir até à morte dos animais. Estamos falando da Influenza ou “Gripe” Equina e da Encefalomielite Equina, também conhecida como “Mal da Roda”, ambas causadas por vírus. A Influenza ocorre mais nos meses ou épocas mais frias do ano e causa sintomas como: febre alta (acima de 40°); falta de apetite; cansaço, tosse seca, corrimento nas narinas e nos olhos e facilita a entrada de novas doenças, principalmente bactérias, que podem levar o animal à morte. A transmissão é muito rápida de um animal para o outro, pois se dá, principalmente, através da tosse, como se dá na gripe entre os humanos.

Já a Encefalomielite é mais frequente nos meses ou épocas mais quentes do ano, pois sua principal forma de transmissão se dá através de insetos que se alimentam de sangue como: muriçoca; mosquito da dengue; mutucas e até carrapatos. Os principais sintomas desta doença são: falta de apetite; sonolência; dificuldade pra se colocar de pé e pra andar; andar em círculos; dificuldade pra se alimentar e morte em poucos dias.

Pra que nossa pesquisa seja completa e eficiente, precisamos saber algumas informações relativas à sua propriedade e à sua criação, bem como examinar individualmente os cavalos que participarão da pesquisa e coletar duas amostras de sangue para realização de exames laboratoriais, que o(a) Senhor(a) poderá, se quiser, ter acesso aos resultados e, de antemão, já receberá orientações quanto às formas de prevenção e controle destas doenças, e, sem qualquer custo para o(a) Senhor(a).

Observação: Nenhuma informação fornecida pelo Senhor(a) e observada e coletada durante esta pesquisa será de qualquer forma divulgada, nem o seu nome ou o da propriedade.

Aceito participar da pesquisa:

Assinatura ou digital do Criador(a)

RG:

Em caso de dúvidas, ligue para: Dr. Marcelo Falcão - Médico veterinário, nos telefones: (98) 988224301 (Oi / Zap) e (98) 981503570 (Tim).

ANEXO I

FEPI - FICHA EPIDEMIOLÓGICA MENSAL													
Estado/UF (Sigla):	PR	Mês:	6	Ano:	2016	Sem notificações:							
		RETIFICAÇÃO?	SIM		DATA DE ENVIO			(VERSÃO ABR/2016)					
Parte 1 - DOENÇAS DA LISTA 4 - REGISTRO MENSAL DE CASOS CONFIRMADOS	ESPÉCIE ANIMAL	NÚMERO DE FOCOS ANTIGOS	NÚMERO DE FOCOS NOVOS		TOTAL DE FOCOS NOVOS	NÚMERO DE EXPOSTOS	NÚMERO DE CASOS	NÚMERO DE ÓBITOS	Nº DE ABATIDOS SOB INSPEÇÃO	NÚMERO DE DESTRUÍDOS	VACINAÇÃO EM RESPOSTA A FOCO*		
			COM DIAGNÓSTICO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO	COM DIAGNÓSTICO LABORATORIAL							NÚMERO DE PROPRIEDADES	NÚMERO DE ANIMAIS VACINADOS	
ACARIOSE/ ACARAPIBOSE DAS ABELHAS MELÍFERAS - B													
ACTINOMICOSE													
ADENTE EQUINA/PAPEIRA/GARROTILO	EQUI	0	1	0	1	3	1	0	0	0	0	0	
ADENOMATOSE PULMONAR OVINA													
ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA/CAE - B													
BOTULISMO (<i>Clostridium botulinum</i>)	BOV	0	1	0	1	20	1	0	0	1	1	1	
CAMPILOB. GENITAL BOVINA (<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>veneralis</i>)													
CERATOCONJUNTIVITE RICKETSICA - B													
CIRCOVIROSE	SUI	0	4	0	4	716	4	3	0	0	0	0	
CRIA GIZ (<i>Ascosphaera apis</i>)													
DISENTERIA VIBRIÔNICA (<i>Campylobacter jejuni</i>)													
ECTIMA CONTAGIOSO													
EPIDIDIMITE OVINA (<i>Brucella ovis</i>) - B													
ERISÍPELA SUÍNA/RUIVA	SUI	0	2	0	2	601	2	0	0				
EXANTEMA GENITAL EQUINO													
FEBRE CATARRAL MALIGNA - B													
FILARIOSE													
INFLUENZA DOS SUINOS	SUI	0	27	0	27	8400	292	36	0	0			
INFLUENZA EQUINA													
LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA													
LINFANGITE ULCERATIVA (<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>)													
LISTERIOSE - B													
MELIOIDOSE (<i>Burkholderia pseudomallei</i>) - B													
NOSEMOSE B													
PIROPLASMOSE/NUTALIOSE/BABESIOSE EQUINA													
PNEUMONIA ENZOÓTICA (<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>)													
RINOPNEUMONIA EQUINA B													
RINOTRAQUEITE INFECCIOSA BOVINA (IBR)													
SALMONELOSE por <i>S. abortusequi</i>													
SALMONELOSE POR <i>S. abortusovis</i>													
SEPTICEMIA HEMORRÁGICA (<i>Pasteurella multocida</i>)													
TOXOPLASMOSE - B													
TRIPANOSOMOSE (<i>T. vivax</i>) - B													
VARIOLA BOVINA													
VARROSE													

Parte 2 - DOENÇAS DAS LISTAS 2 E 3 - NOTIFICAÇÃO IMEDIATA AO DSA E REGISTRO MENSAL DE CASOS CONFIRMADOS	ESPÉCIE ANIMAL	NÚMERO DE FOCOS ANTIGOS	NÚMERO DE FOCOS NOVOS		TOTAL DE FOCOS NOVOS	NÚMERO DE EXPOSTOS	NÚMERO DE CASOS	NÚMERO DE ÓBITOS	Nº DE ABATIDOS SOB INSPEÇÃO	NÚMERO DE DESTRUÍDOS	VACINAÇÃO EM RESPOSTA A FOCO*	
			COM DIAGNÓSTICO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO	COM DIAGNÓSTICO LABORATORIAL							NÚMERO DE PROPRIEDADES	NÚMERO DE ANIMAIS VACINADOS
AGALAXIA CONTAGIOSA (<i>Mycoplasma agalactiae</i>) - A, B												
BRÚCELOSE SUÍNA (<i>Brucella suis</i>) - A, B												
CARBÚNCULO HEMÁTICO/ BACTERIANO/ANTRAZ (<i>Bacillus anthracis</i>) - A, B												
CRIA PUTRIDA AMERICANA/ LOQUE AMERICANA - A, B												
CRIA PUTRIDA EUROPEIA/ LOQUE EUROPEIA - A, B												
DOENÇA DE AUJESZKY - A, B												
ENCEFALOMIELITE EQUINA DO LESTE - A, B												
ENCEFALOMIELITE EQUINA DO OESTE - A, B												
ESTOMATITE VESICULAR A, B, C												
FEBRE Q - A, B												
LÍNGUA AZUL - A, B, C	CER	1										
MIXOMATOSE - A, B												
PARATUBERCULOSE (<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>Paratuberculosis</i>) - A, B												
SCRAPIE - A, B												
SURRA (<i>Trypanosoma evansi</i>) - A, B												
TEILERIOSE - A, B												
LÍNGUA AZUL - A, B, C	OVI	1										

Parte 3 - DOENÇAS DA LISTA 4 - REGISTRO DA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE CASOS CONFIRMADOS NO MÊS - DISPENSADO ENVIO DOS DADOS QUANTITATIVOS PARA O DSA

ANAPLAMOSE BOVINA	*****	*****	PRESENTE	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
BABEIOSE BOVINA	*****	*****	PRESENTE	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
CARBUNCULO SINTOMÁTICO MANQUEIRA (<i>Clostridium chauvoei</i>)	*****	*****	PRESENTE	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
COCCIDIOSE (exceto aves)	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVD)	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
ENTEROTOXEMIA BOVINA (<i>Clostridium perfringens</i>)	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
FOOT-ROT/PODR. CASCOIS (<i>Fusobacterium necrophorum</i>)	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
LEPTOSPIROSE	*****	*****	PRESENTE	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
LINFADENITE CASEOSA	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
MILÍASE (<i>Cochliomyia hominivorax</i>)	*****	*****	PRESENTE	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
OUTRAS CLOSTRIDIOSES (exceto chauvoei, botulinum, perfringens e tetani)	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
OUTRAS PASTEURELOSES (exceto P. multocida)	*****	*****	PRESENTE	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
PARVOVIROSE SUÍNA	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
RINITE ATRÓFICA	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
SALMONULOSE INTESTINAL	*****	*****	PRESENTE	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
SARNA OVINA	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
TÉTANO (<i>Clostridium tetani</i>)	*****	*****	PRESENTE	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****
TRICOMONOSE	*****	*****	SEM NOTIFICAÇÃO	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****

Códigos das espécies animais:

BOV – bovinos **BUF** – bubalinos **CAP** – caprinos **OVI** – ovinos **EQU** – equídeos **SUI** – suínos **JAV** – javali **CER** – cervídeos **CML** – camelídeos **FAU** – animais silvestres (ESPECIFICAR NO CAMPO OBSERVAÇÕES) **LEP** – leporinos (lebres/coelhos)
CAN – caninos **FEL** – felinos **API** – abelhas

Legenda: **A** - notificação imediata e envio obrigatório dos Formulários de Investigação ao notifica.dsa@agricultura.gov.br **B** - confirmação laboratorial obrigatória em pelo menos um foco **C** - Identificar os casos de Estomatite Vesicular e Língua Azul segundo o sorotipo diagnosticado

OBSERVAÇÕES:

Outras doenças só devem ser acrescentadas a este informe por orientação do DSA

Informações validadas por: (Médico Veterinário responsável no Serviço Veterinário Estadual)		E-mail:	
Nome:	Cristina Ballista Arrua	epidemio@adapar.pr.gov.br	
Data:	18/08/2016		
Informações validadas por: (Médico Veterinário responsável na Superintendência Federal de Agricultura)		E-mail:	
Nome:			
Data:			

ANEXO II

LUCIANO CHIOCHETTA
Diretor-Presidente

PORTARIA/IAGRO/MS Nº 3.573, DE 04 DE JULHO DE 2017

Dispõe sobre a obrigatoriedade de apresentação do atestado de vacinação contra a Influenza Equina (gripe equina) para fins de emissão de Guia de Trânsito Animal (e-GTA / GTA manual) de equídeos para aglomeração com finalidade comercial e aglomeração sem finalidade comercial.

O DIRETOR-PRESIDENTE DA AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA SANITÁRIA, ANIMAL E VEGETAL - IAGRO, no uso de suas atribuições legais, consoante disposições do inciso VIII, do art. 13, do Decreto Estadual n.º 11.716, de 3 de novembro de 2004;

Considerando a Portaria DDA nº 162 de 18 de outubro de 1994, a Instrução de Serviço DDA nº 017/2001 de 16 de novembro de 2001 e o Manual de Emissão de GTA de Equídeos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA);

Considerando a vacinação como principal ferramenta de controle da Influenza Equina e visando preservar as condições sanitárias do rebanho equídeo sul-mato-grossense das doenças de notificação obrigatória;

Resolve:

Art. 1º Estabelecer no Estado de Mato Grosso do Sul, a obrigatoriedade de apresentação do atestado de vacinação contra Influenza Equina para fins de emissão de e-GTA / GTA manual de equídeos (asininos, muares e equinos)

destinados a aglomerações dentro ou fora do Estado, conforme modelo disposto no anexo único:

- I - Aglomeração com finalidade comercial (Leilão);
- II - Aglomeração sem finalidade comercial (Exposição e Esporte);

Parágrafo único. O trânsito interestadual de equídeos com destino a aglomerações no estado do Mato Grosso do Sul, somente será permitido se acompanhado do atestado de vacinação, juntamente com a e-GTA / GTA manual e demais exames obrigatórios. O modelo de atestado de vacinação de outros Estados será válido desde que conste todos os itens relacionados no Art. 2º desta portaria.

Art. 2º O atestado de vacinação contra Influenza Equina deverá estar preenchido com os dados e a resenha do equídeo, além de constar a vacina (laboratório/marca) utilizada com seu respectivo número do lote/partida e data de validade, o nº da nota fiscal do produto, a data da vacinação e a assinatura e carimbo do médico veterinário devidamente inscrito no Conselho Regional de Medicina Veterinária (CRMV).

Art. 3º Estabelecer o prazo de carência para emissão de e-GTA / GTA manual de no mínimo 15 dias.

Art. 4º Estabelecer a validade da imunização para emissão de e-GTA / GTA manual de no máximo 360 dias.

Art. 5º Equídeos com idade inferior a 6 meses são isentos da apresentação de atestado de vacinação contra Influenza Equina, desde que acompanhados da mãe portando atestado.

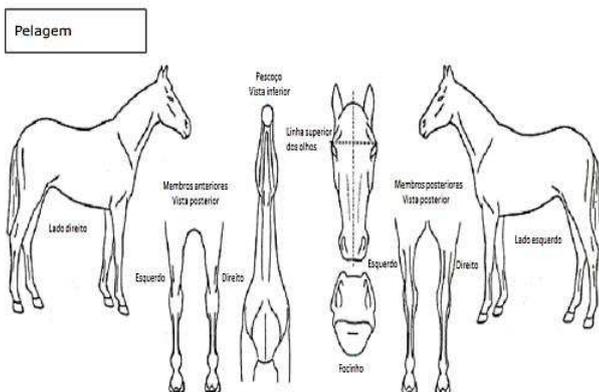
Art. 6º Permitir, no Estado de Mato Grosso do Sul, além da via original, a apresentação de cópia autenticada em cartório ou pelo serviço veterinário oficial (SVO) do comprovante de vacinação do passaporte equino, desde que conste os dados e a resenha do equídeo, a vacina (laboratório/marca) utilizada com seu respectivo número do lote/partida e data de validade, o nº da nota fiscal do produto, a data da vacinação e a assinatura e carimbo do médico veterinário devidamente inscrito no CRMV.

Art. 7º Esta Portaria entrará em vigor decorrido 90 dias após sua publicação.

LUCIANO CHIOCHETTA
Diretor-Presidente.

ANEXO ÚNICO – ATESTADO DE VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA EQUINA

Eu, _____, médico veterinário, CRMV _____, atesto que resenhei e vacinei o equídeo abaixo especificado:



Descrição

Especificações do Animal					
Espécie	Nome do Animal	Sexo	Raça	Idade	Marca/Registro/Nº

Especificações da Vacina (colar o selo quando houver)

Especificações do Animal

Espécie	Nome do Animal	Sexo	Raça	Idade	Marca/Registro/Nº

Especificações da Vacina (colar o selo quando houver)

Laboratório/Marca	Lote/Partida	Validade	Nº nota fiscal	Data da vacinação
				Reforço

Especificações do Produtor

Nome do Produtor	IE ou IS	Propriedade	Município /UF

Este atestado de vacinação tem a validade de 360 dias a partir da data da vacinação e carência de, no mínimo, 15 dias para fins de emissão e-GTA / GTA manual.

Assinatura / Carimbo / Celular

PORTARIA/IAGRO/MS Nº 523 DE 05 DE JULHO DE 2017.

Dispõe sobre o cadastramento no Sistema de Certificação Fitossanitária de Origem a Unidade de Produção no Estado de Mato Grosso do Sul e dá outras providências.

O DIRETOR-PRESIDENTE DA AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA SANITÁRIA ANIMAL E VEGETAL DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL - IAGRO no uso de suas atribuições legais e,

Considerando a Instrução Normativa SDA/MAPA nº 33, de 24 de agosto de 2016, que dispõe sobre cadastramento no Sistema de Certificação Fitossanitária

de Origem a Unidade de Produção no Estado de Mato Grosso do Sul;

R E S O L V E:

Art. 1º. Cadastrar no Sistema de Certificação Fitossanitária de Origem a Unidade de Produção de Banana na Fazenda Formiga, no município de Inocência, do arrendatário/ produtor Flávio Manoel Borges, no Estado de Mato Grosso do Sul:

NOME	PRODUTOR	MUNICÍPIO	PROCESSO	REGISTRO
Fazenda Formiga	Flávio Manoel Borges	INOCÊNCIA	71/501.270/2017	50.500.4403.0035.17.001

Art. 2º. O cadastramento da Unidade de Produção na IAGRO tem o prazo de 01(um) ano da data da publicação, devendo ser solicitado renovação anualmente.

Art. 3º. Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

Campo Grande, 05 de julho de 2017.

Luciano Chiochetta
Diretor-Presidente

PORTARIA/IAGRO/MS Nº 525 DE 05 DE JULHO DE 2017.

Dispõe sobre o cadastramento no Sistema de Certificação Fitossanitária de Origem a Unidade de Produção no Estado de Mato Grosso do Sul e dá outras providências.

O DIRETOR-PRESIDENTE DA AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA SANITÁRIA ANIMAL E VEGETAL DO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL - IAGRO no uso de suas atribuições legais e,

Considerando a Instrução Normativa SDA/MAPA nº 33, de 24 de agosto de 2016, que dispõe sobre cadastramento no Sistema de Certificação Fitossanitária de Origem a Unidade de Produção no Estado de Mato Grosso do Sul;

R E S O L V E:

Art. 1º. Cadastrar no Sistema de Certificação Fitossanitária de Origem a Unidade de Produção de Banana na Fazenda Pouso Belo, no município de Paranaíba, do produtor Edson Pinheiro, no Estado de Mato Grosso do Sul:

NOME	PRODUTOR	MUNICÍPIO	PROCESSO	REGISTRO
Fazenda Pouso Belo	EDSON PINHEIRO	PARANAÍBA	71/501.268/2017	50.500.6309.0020.17.002

Art. 2º. O cadastramento da Unidade de Produção na IAGRO tem o prazo de 01(um) ano da data da publicação, devendo ser solicitado renovação anualmente.

Art. 3º. Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

Campo Grande, 05 de julho de 2017.

Luciano Chiochetta
Diretor-Presidente

Falcão, Marcelo de Abreu.

Pesquisa de antivírus causadores de Influenza e Encefalomielite equina em rebanhos equídeos da região dos Lençóis / Marcelo Falcão Abreu. – São Luís, 2017.

97 f.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2017.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Praseres Chaves.