



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

FILIFE RAMON BACELAR DE CARVALO

**LEVANTAMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA ANEMIA
INFECCIOSA EQUINA (AIE) EM ASININOS E MUARES NO
MUNICÍPIO DE ARACI – BA**

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

JULHO - 2016

FILIFE RAMON BACELAR DE CARVALO

**LEVANTAMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA ANEMIA
INFECCIOSA EQÜINA (AIE) EM ASININOS E MUARES NO
MUNICÍPIO DE ARACI – BA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Graduação de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira

Coorientador: Prof. MSc. Marcus Paulo de Matos Maturino

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

JULHO - 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
COLEGIADO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÇA106 – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FILIPE RAMON BACELAR DE CARVALHO

LEVANTAMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA ANEMIA INFECCIOSA EQUINA (AIE)
EM ASININOS E MUARES NO MUNICÍPIO DE ARACI – BA



Prof. MSc. Marcus Paulo de Matos Maturino
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Especialista Cicely Maria Franco Fontes



MSc. Lilian Porto de Oliveira

Cruz das Almas, 22 de julho de 2016.

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Dedicatória

À toda a minha família em especial meus pais, a meus irmãos e, a minha namorada, por todo amor e apoio ensinando sempre, o verdadeiro valor da vida.

Agradecimentos

Ao grandioso Deus, por ter me propiciado o dom da vida. Dando-me forças para realizar cada objetivo traçado.

A toda minha família, pelo constante apoio, através da demonstração de carinho, por estimular sempre e por toda compreensão em todos os momentos, em especial aos meus pais Florisvaldo e Venis fontes de inspiração, agradeço imensamente pelo seu amor, e por construírem o homem que sou.

Aos meus irmãos Flávio, Mileno, Alexandre e Venilia sou grato pelo companheirismo e parceria sendo sempre exemplos a seguir.

A minha namorada e amiga Eliana Sousa, pelo carinho, compreensão, apoio, dedicação e incentivo, me tornando uma pessoa cada vez melhor e cheio de amor.

A meu irmão Flávio "em memória", pois além de irmão, sempre foi um exemplo pai, amigo e grande referência a se seguir, e que mesmo após a sua partida sinto sempre sua presença a me proteger e guiar, obrigado irmão, sei que estará sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

A minha Madrinha Terezinha Carvalho, que sempre de alguma forma esteve presente em minha formação pessoal e profissional, sendo sempre uma referência de muita integridade, garra e ética profissional para se espelhar para toda vida.

Ao meu orientador professor Robson Bahia Cerqueira que me acolheu durante esses 4 anos de orientação de iniciação científica, abrindo portas, me dando sempre muito apoio e confiança sempre transferindo muito do seu vasto conhecimento, se tornando mais que um orientador mas também o grande amigo.

Ao meu coorientador professor Marcus Paulo de Matos Maturino, pela atenção, compreensão e principalmente pela troca de saberes essencial nesta trajetória final da minha graduação.

Ao todos do grupo de pesquisa em infectologia e saúde veterinária (GPISV), por todo companheirismo e parceria em toda essa trajetória, assim, construindo grandes amizades.

A todos os professores que passaram por toda a minha vida estudantil até o momento, desde os rabiscos das primeiras letras até os ensinamentos profissionalizantes da medicina veterinária, que me ajudaram, incentivaram,

aconselharam e acima de tudo corrigiram quando necessário, passando conhecimento acima de tudo para vida.

A todos os profissionais Medico (a) Veterinários (as) que passaram pela minha vida acadêmica, abrindo portas para aprendizado e aprimoramento dos ensinamentos da universidade através dos estágios extracurriculares, que me ajudaram, incentivaram a consolidar o profissional que serrei.

Aos amigos e colegas que foram constituídos nesta caminhada da Universidade que participaram de alguma forma da minha formação, e em especial aqueles que compartilharam de muitos momentos, torcendo e vibrando por minhas conquistas.

Aos demais amigos da vida que sempre ajudaram nesse período de formação com palavras de encorajamento e força.

Os meus sinceros agradecimentos!!!

Muito obrigado!

“Todas as coisas da criação são filhos do pai e irmãos do homem. Deus quer que ajudemos aos animais, se necessitam de ajuda. Toda criatura em desgraça tem o mesmo direito a ser protegida”.

São Francisco de Assis.

Resumo

A produção de equinos cresce ao longo dos anos no Brasil, realizando um caminho oposto da criação de asininos e muares que demonstrou queda nos seus índices de produção de 2011 para 2012 e não existe avaliação desde 2013. Como consequência ocorre uma ausência do controle populacional, o que facilita a disseminação de patologias, como por exemplo, a Anemia Infecciosa Equina (AIE). Causada por um lentivírus a AIE é tratada como uma das principais doenças infectocontagiosas da equideocultura. Não existe relato de tratamento com sucesso para a AIE, assim como não foram desenvolvidos protocolos eficientes de vacinação, a legislação vigente recomenda a eutanásia dos animais positivos. A partir do contexto apresentado, o presente trabalho apresenta como objetivo estudar soro-epidemiológico a situação da Anemia Infecciosa Equina nos asininos e muares no município de Araci BA. Foram identificados 2997 asininos e 893 muares no município, a estimativa para investigação é baseada na prevalência da enfermidade no estado que é de 4%, (ROSA et. al., 2012), determinando um total de 173 amostras a serem coletadas. Foram realizadas visitas e aplicação de questionário epidemiológico em 96 propriedades no município de Araci, no estado da Bahia. As amostras de soro coletadas foram submetidas ao teste de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), no laboratório de doenças infecciosas (LDI) do hospital universitário de medicina veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Das 173 amostras testadas, todas as amostras foram negativas ao teste. Entretanto, se destaca os fatores de risco identificados na pesquisa, no qual 95% dos animais coletados vivem a pasto livre, o que ocasiona maior facilidade de contaminação. Outros fatores de risco identificados foram, o uso coletivo de seringas e agulhas de aproximadamente 27%, a não realização de exame dos animais para controle e ou transporte de 95% dos animais coletados. Os resultados obtidos com este trabalho demonstram que apesar de não detectar animais soropositivos, os fatores de risco para disseminação da AIE estão presentes na referida região.

Palavras Chaves: Asinino/muar, diagnóstico, epidemiologia.

Abstract

The production of horses grows over the years in Brazil, performing an opposite path of creating asses and mules that showed a drop in their 2011 production figures for 2012 and there is no evaluation since 2013. As a result there is a lack of population control, which facilitates the spread of diseases, for example, the Equine Infectious Anemia (EIA). Caused by a lentivirus the IEA is treated as one of the major infectious diseases equideocultura. There is no successful treatment report to the IEA, and were not efficient protocols vaccination developed, the legislation recommends euthanasia of positive animals. From the presented context, the present work to study sero-epidemiological situation of Equine Infectious Anemia in donkeys and mules in the municipality of Araci BA. 2997 horses and 893 mules were identified in the city, the estimate for research is based on the prevalence of the disease in the state which is 4% (ROSA et. Al., 2012), determining a total of 173 samples to be collected. Visits were made and the application of epidemiological survey in the 96 properties in the municipality of Araci, in the state of Bahia. Serum samples were submitted to immunodiffusion test in agarose gel (AGID), in the laboratory of infectious diseases (ILD) of the university hospital of veterinary medicine at the Federal University of Bahia Reconcavo. Of the 173 samples tested, all amos-tras the test were negative. However, it highlights the risk factors identified in the survey, in which 95% of the collected animals live free pasture, which leads to greater ease of contamination. Other identified risk factors were, the collective use of syringes and needles of approximately 27%, the failure to carry out examination of the animals to control or transport and 95% of animals collected. The results of this study show that despite not detect seropositive animals, the risk factors for spread of the IEA are present in that region.

Key Words: Asinine / hinnies, diagnosis, epidemiology.

LISTA DE SIGLAS

% - Porcentagem

SCP - Soro Controle Positivo

AIE - Anemia Infecciosa Equina

ELISA – Ensaio Imunoenzimático

DNA - Ácido desoxirribonucléico

IDGA - Imunodifusão em Gel de Àgar

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

OIE - Office Internacional des Épizooties

RNA - Ácido Ribonucleico

UFRB - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

VAIE - Vírus da Anemia Infecciosa Equina

PNSE – Plano Nacional de Sanidade Equina

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e estatística

LDI – Laboratório de Doenças Infecciosas

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Lentivírus - Fonte: Tim Cordes, D.V.M. e Chuck Issel, D.V.M., Ph.D. (1996).....	18
FIGURA 2. Modelo de interpretação recomendado pela Portaria nº 84 do MAPA, 1992.....	28
FIGURA 3. Localização geográfica do município Araci (BA), Fonte: Google Maps, 2016.....	33
FIGURA 4. Antissepsia seguida da coleta de sangue através da punção da veia jugular, utilizando agulha descartável 40x12mm e tubo sem anticoagulante. Fonte: Arquivo Pessoal.....	34
FIGURA 5. Tubos com sangue coletado mantidos em geladeira para retração do coágulo e dessorado. Fonte: Arquivo Pessoal.....	35
FIGURA 6. Perfil dos animais usados na investigação. Fonte: Arquivo Pessoal.....	35
FIGURA 7. Reação negativa identificado em 100% das amostras testadas segundo instruções da Portaria nº 84 do MAPA, 1992.....	38
FIGURA 8. Localização da região onde as propriedades onde as amostras de sangue de asininos e muares foram coletadas se encontram.	39

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Amostras de soro de asininos, muares, coletados no município baiano de Araci - BA, submetido ao teste de IDGA para o diagnóstico de Anemia Infecciosa. Equina.....	38
Gráfico 2. Atividade desenvolvida pelos asininos, muares, coletados no município baiano de Araci – BA.	40
Gráfico 3. Forma de utilização de agulhas em momento de vacinação e aplicação de medicação nos asininos, muares, coletados no município baiano de Araci – B..	40
Gráfico 4. Quanto a realização de exames de IDGA para controle da doença nos asininos, muares, coletados no município baiano de Araci – BA.	41

Sumário

1	Introdução	16
2	Revisão de literatura.....	18
2.1	Agente etiológico, características e variação de espécie	18
2.2	Transmissão	19
2.3	Epidemiologia	20
2.4	Reservatórios	22
2.5	Resposta imune	22
2.6	Patogenia	23
2.7	Sinais clínicos	24
2.8	Diagnóstico.....	25
2.8.1	Diagnósticos clínico	25
2.8.2	Diagnósticos laboratoriais	25
2.9	Medidas de controle e prevenção.....	29
3	Objetivo.....	32
3.1	Objetivo geral	32
3.2	Objetivos específicos	32
4	Metodologia	33
4.1	Área de estudo	33
4.2	Amostras	33
4.3	Imunodifusão em gel de agarose	36

5 Resultados	38
6 Discussão.....	41
7 Conclusão	43
Referências.....	44
Anexo	49

1 Introdução

O Brasil tem um rebanho de 902.716 mil asininos e 1.221.756 milhão de muares, o que corresponde a participação regional, aproximadamente 90% e 48% respectivamente dos animais encontra-se no nordeste. O maior efetivo de asininos encontra-se nos estados da Bahia (25,6%), Ceará (20,3%), Piauí (12,7%) e Maranhão (11,1%), visto que, os municípios de Feira de Santana e Jaguaquara são os locais de maior rebanho no Estado da Bahia. Em relação aos muares o maior efetivo encontra-se nos estados da Bahia (21,1%), Minas Gerais (12,6%) e Pará com (8,1%). As cidades de Una – BA e Barra da Estiva – BA, são os locais de maior rebanho no estado da Bahia. No nordeste, a principal finalidade da criação é para o serviço de traçado e montaria. Ao comparar os dados de 2011 e 2012, a região demonstra queda de 7,4% e 3,8%, nos rebanhos de asinino e muares respectivamente. Os valores demonstrados são justificados pela frequente redução da importância econômica dos asininos e muares na produção pecuária, substituídos por motocicletas e máquinas agrícolas para o transporte de cargas e de pessoas e para a tração de implementos agrícolas (BRASIL, 2012).

A Anemia Infecciosa Equina (AIE), causada por um lentivírus pertencente à família Retroviridae (Flores et al., 2007), é considerada uma das principais doenças infectocontagiosa da equideocultura, pois ocasiona sérios problemas ao trânsito de equídeos (equinos, asininos e muares). Assim, interfere em eventos esportivos equestres, e pode interferir na subsistência de pequenos produtores que dependam deste animal para o trabalho, deste modo, a enfermidade apresenta uma relevância econômica. Por essa razão estudos de aspectos sorológicos, epidemiológicos da doença se tornam muito importante para diminuição dos problemas ocasionados pela AIE, favorecendo assim cada vez mais o sucesso da equideocultura (FRANCO; PAES, 2011).

Quando se trata da transmissão deste vírus é observado que se dá através de insetos hematófagos, que tem predileção por realizar sucção de sangue dos equídeos. Por meio desta ação é realizada uma transferência de sangue de um animal para outro, onde os tabanídeos e a mosca dos estábulos são os mais citados

pela literatura, como responsável por essa propagação da enfermidade (KARAM et al. 2010).

O vírus da AIE tem capacidade para manter-se no ambiente, resistindo de sete meses a quatro anos a uma temperatura de 37°C . O tempo de resistência varia de acordo com o substrato em que o vírus se encontra. É importante para controlar a proliferação do vírus saber que este organismo não resiste a alterações químicas como mudanças de pH e elevadas temperaturas (RICHETER, 1999 apud ROSA et. al., 2012). Para o diagnóstico se realiza um teste sorológico, e o mais utilizado, e também padrão ouro é a Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA), também conhecido como teste de Coggins, é também o teste recomendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 1992) do Brasil de vários países (FLORES et al., 2007).

O IDGA detecta anticorpos precipitantes presentes no sague do animal, é o método reconhecido pela Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE) para o diagnóstico de AIE. No Brasil o IDGA e ELISA são considerados técnicas para o diagnóstico e trânsito de animais quando realizado por laboratórios oficiais ou laboratórios credenciados pelo MAPA (PENA et al., 2006; MAPA,2014). Para diagnóstico são também utilizadas outras técnicas como o Ensaio imunoenzimático (ELISA), Immunoblot e Reação em cadeia da polimerase (PCR), mas sem reconhecimento da OIE para trânsito animal (MOTTA, 2007).

Assim esta investigação contribuirá para o conhecimento da situação soro epidemiológica da AIE no município investigado, e permitirá construir estratégias para o controle desta enfermidade.

2 Revisão de literatura

2.1 Agente etiológico, característica e variação de espécie

As primeiras investigações da AIE foram realizados na França em 1843, só sendo possível detectar sua etiologia viral por volta de 1904, por Vallée e Carré. A doença foi constatada no Brasil, como infecção natural, pela primeira vez em 1968 no Rio Grande do Sul em uma hípica e em um animal na Cavalaria Militar do Rio de Janeiro (Flores et al., 2007).

A AIE é causada por um lentivírus (Figura 1) pertencente à família Retroviridae (Flores et al., 2007, RADOSTITS et al., 2002), que acomete equinos, asininos e muares, independentemente de raça, idade e sexo, seu genoma é constituído por fita dupla de RNA, com gens que codificam proteínas estruturais e enzimas necessárias à replicação viral (QUINN et al., 2005, MOTTA, 2007).

O vírus possui proteínas nucleares, p26, proteínas de capsídeo formando um envoltório em torno do nucleocapsídeo, p15, proteína de matriz formando a face interna do envelope, p11 e p9 do nucleocapsídeo sendo proteínas ligantes de RNA. As glicoproteínas codificadas no envelope são a gp 90 e gp 45, são de superfície e promovendo interação das membranas do vírus com o hospedeiro (CAVALCANTE, 2009). O vírus tem uma grande habilidade de se replicar através da inoculação do DNA viral dentro da célula do hospedeiro, que irá ocorrer logo após a conversão do RNA em DNA pela transcriptase reversa (RIBEIRAL, 2006).

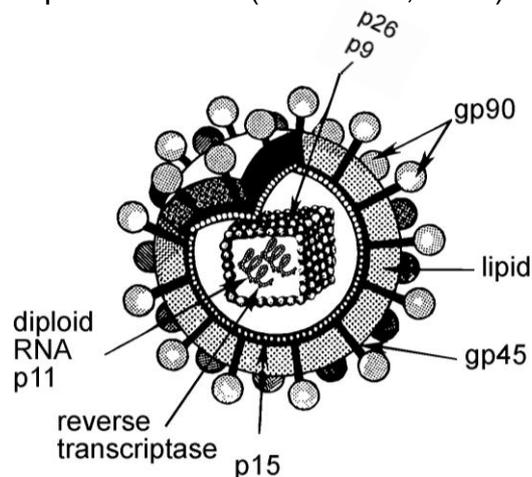


Figura 1 – Lentivírus. Fonte: Tim Cordes, D.V.M. e Chuck Issel, D.V.M., Ph.D. (1996).

O vírus da anemia infecciosa equina (VAIE) se encontrar condições de sobrevivência como em substratos, a exemplo do sangue, saliva entre outros, terá uma capacidade infectante alta, podendo permanecer até 4 anos viável, já no ambiente é de até 7 meses. Em temperatura considerada ambiente, a aproximadamente uns 25°C permanece infeccioso por 96 horas em agulhas elevando seu potencial de transmissão (RIBEIRAL, 2006).

Em elevadas temperaturas como 45°C a 50°C o vírus é lábil e não resistirá, sofrendo também alterações a mudanças bruscas de valores de pH, podendo ser inativado pela incidência direta da luz solar. Tem boa resistência a baixas temperaturas, não apresentando bons resultados a tratamentos com baixas temperatura executada em frigoríficos. O VAIE é inativado, quando submetidos a tratamentos químicos como desinfetantes comuns que contêm detergentes, hidróxido de sódio, hipoclorito de sódio, pela maioria dos solventes orgânicos e por clorexidina (RICHETER, 1999).

2.2 Transmissão

A transmissão do VAIE nos animais da espécie equídea ocorre principalmente por insetos hematófagos do gênero *Tabanidae*, espécies de *Tabanus sp.* (mosca do cavalo) e *Stomoxys calcitrans* (mosca do estábulo), (RIET-CORREA, 2007; RIBEIRAL, 2006; Maidana N. A, Bassanezi R C., 2011). A transmissão pode ocorrer por secreções como muco, sêmen e saliva, vias de eliminação do vírus principalmente nos estágios febris (SANTO, 2008). Entretanto deve ser destacado que existem outras formas de transmissão do VAIE que é a iatrogênica ou também conhecida por transmissão mecânica, na qual o homem se torna o principal responsável pela transmissão da enfermidade, muitas vezes por falta de esclarecimento, na utilização inadequada de agulhas, seringas e até mesmo instrumentos cirúrgicos contaminados, outra observação que deve ser tomada é em casos de necessidade de transfusão, sendo necessário a realização de diagnóstico do animal doador antes, para ter a certeza que o mesmo não está contaminado, (BROWN; BERTONE, 2005).

Além das possíveis formas de disseminação iatrogênica, contato próximo com animais contaminados e através de insetos, outra possível forma que tem se relatado é transmissão podem ser a intra-uterina ou através da ingestão de colostro, se a mãe estiver em estagio agudo acompanhada de alto título de viremia (CAVALCANTE, 2009).

O VAIE é um dos que apresentam um grande período de incubação é variável e depende diretamente da dose infectante com que o animal entro em contato, pode ser de 3 a 70, com media de 20 dias. Uma vez infectado o cavalo torna-se um portador permanente da AIE, independente da ausência ou severidade dos sintomas, passando a ser um foco em potencial e por isto deve ser eliminado (STECK, W. 1969 apud CARVALHO JÚNIOR, 1998).

2.3 Epidemiologia

Com caráter de distribuição mundial, mas com predileção para maior disseminação da enfermidade em locais úmidos, montanhosos com clima subtropical ou tropical, em decorrência principal da preferência dos vetores por estas características para sua reprodução. Exemplo disso é a alta taxa de prevalência em eqüinos no Pantanal (RIBEIRAL, 2006).

Em regiões como o Pantanal acredita-se que a enfermidade possa ter entrado em 1974 por animais importados de outros estados em que já existam a doença e estes já estavam contaminados pela AIE (SANTO, 2008).

Muitos levantamentos sorológicos de vários estados brasileiros, o Pará, Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso do Sul, Goiás e Rio Grande do Sul, demonstram a presença do VAIE na população equina do país, com menor relato nos asininos e muares. A prevalência são sempre de moderado a alto, principalmente em regiões com alta lotação de animais e favorecimento a sobrevivência do vetores (FLORES, 2007). É importante relatar que o grau de infestação dos vetores no ambiente está

diretamente relacionado com a velocidade de disseminação do agente (SILVA; ABREU; BARROS, 2001).

Riet – Correa et. al., (2007), relataram que o Brasil, mesmo sendo um país que sofre com a AIE e compreendendo a importância da enfermidade, ainda realiza poucos estudos sobre sua situação sorológica. A prevalência do VAIE no Brasil gira em torno de 3% a 5% entre os anos 1991 e 2001, relata ainda que as regiões Centro-Oeste e Norte do país possuem os maiores índices de animais positivos, cerca de 12,7% e 11,8%, respectivamente, isso se justifica muito pelas características climáticas da região e o sistemas de manejo dos animais favoráveis à disseminação do vírus.

Silva, Dávila e Abreu (1999) relatam uma alta prevalência em animais de serviço principalmente pelo maior contato com o homem sendo este o principal responsável, pela transmissão da AIE, pelo meio iatrogênico, depois dos insetos hematófagos, através da utilização incorreta de utensílios como agulhas, freio, embocaduras, esporas, podendo estes estarem contaminados, disseminando o agente para os animais.

No Sul Baiano 2457 amostra de sangue de equídeos coletados em 68 municípios na mesorregião de Itabuna BA foi identificada uma prevalência de 5,90% (145/2457) foram positivos para o vírus da AIE (Guimarães 2011).

Em avaliação do banco de dados da agencia de defesa agropecuária do estado da Bahia (ADAB) foi constatado índices de prevalência da AIE entre 2009 e 2012, em 2009 foram realizados 3.962 exames, sendo 181 amostras (4,56%) positivas, em 2010 das 5.287 amostras processadas, 235 (4,44%) foram positivas, em 2011 foram encontradas 470 (8,87%) amostras positivas, dentre as 5.293 testadas. Até Fevereiro de 2012, já tinham sido processadas 411 amostras, tendo sido encontradas 17 (4,13%) amostras positivas, com um numero médio de 71 municípios que houve coleta e remessa de amostras ao laboratório de sanidade animal (LADESA) da ADAB, destacando uma media de 4% da prevalência no estado (ROSA, et. al. 2012).

2.4 Reservatório

O vírus acomete todos os componentes da família *Equidae* sem predileção por espécie, sexo, raça, idade (CAVALCANTE, 2009), porém Motta (2007) realizou uma comparação do perfil sorológico e detecção do vírus em asininos e muares naturalmente infectados, relatando que asininos e muares podem apresentar níveis de anticorpos inferiores aos eqüinos, além de níveis mais baixos de vírus e ácidos nucléicos no plasma contribuindo para comprovar que os muares e asininos, por terem respostas sorológicas e viremia diferentes dos eqüinos, constituem-se em importantes reservatórios.

Eqüinos infectados há mais de um ano têm a capacidade de reduzir a gravidade dos sintomas, tornando-se um animal muitas vezes assintomático e essa característica associada a falta de exames sorológicos periódicos contribui para a importância desses animais como reservatório nas propriedades rurais (RIBEIRAL, 2006; SILVA; ABREU; BARROS, 2001; SANTO, 2008).

2.5 Resposta imune

São muitos os mecanismos imunológicos direcionados contra proteínas virais que podem estar envolvidos na resposta do organismo ao VAIE. Anticorpos contra proteínas Env causam neutralização viral ou a possível destruição de células através da expressão das proteínas Env ou outras proteínas provocando citotoxicidade celular anticorpo-dependente ou lise pelo sistema complemento (FLORES *et al.*, 2007).

Os lentivirus como o VAIE tem como característica a capacidade de inserção do material genético no interior das células do hospedeiro, podendo este entrar em fase de latência na qual não se replica, não havendo expressão do antígeno viral promovendo o escape do vírus à resposta imune do hospedeiro (SANTO, 2008).

A maioria dos eqüídeos desenvolve a resposta imune humoral detectável através dos testes sorológicos entre 16 a 42 dias após a infecção, os anticorpos anti-

gp90 são os primeiros a aparecer no sangue, entre sete e dez dias pós-infecção, e passa a ser o anticorpo predominante no animal infectado. dez a 14 dias pós-infecção há o aparecimento de anticorpos anti-p26 e apesar da rapidez para atingir o pico de concentração, seus valores são inferiores aos anti-gp90 (MOTTA, 2007).

A partir de duas semanas pós infecção os equinos infectados desenvolvem resposta imune celular mediada por linfócitos TCD8+, complexo de histocompatibilidade principal específico para o VAIE, provocando a lise de células renais eqüinas autólogas infectadas pelo vírus como demonstrado por McGuire *et al.* (1994), e esses mecanismos são importantes no controle da replicação viral até que a resposta humoral se torne eficaz (HAMMOND *et al.*, 1997).

Os portadores assintomáticos demonstram níveis baixos de infecção e replicação viral sendo esta predominante nos macrófagos teciduais e níveis insignificantes do vírus são detectáveis no plasma ou em células do sangue, indicando que a progressão da AIE na fase crônica está associada com a evolução altamente eficaz e duradoura da resposta imune do hospedeiro sendo capaz de suprimir a replicação viral, apesar dos mecanismos de escape utilizados pelo vírus, sendo a evolução das células responsáveis pela memória imunológica dependente de um estímulo persistente através dos antígenos virais (HAMMOND *et al.*, 2000).

2.6 Patogenia

Após a infecção, devido ao seu tropismo por monócitos e macrófagos, há uma interação da gp90 viral com receptores específicos na célula do hospedeiro, e ocorre a absorção. O VAIE então replica-se através da cópia do RNA pela transcriptase reversa, iniciando-se pela região de terminação longa (RIET-CORREA, 2007), gerando uma dupla fita de DNA que se integra ao genoma celular mediado pela integrase, ocorrem então transcrição e tradução de novas proteínas de capsídeo que revestirão o novo virion (MOTTA, 2007).

A transcrição de genes virais (multiplicação) ocorre com longos períodos de latência, nesses períodos a célula não expressa o antígeno viral, justificando muitas

vezes os animais doentes não ser identificado por baixa carga viral circulante impedindo o reconhecimento pelo sistema imune e pelo teste (SANTO, 2008).

Esses processos ocorrem no interior dos macrófagos teciduais maduros do fígado, baço, nódulos linfáticos, pulmões, rins e glândulas adrenais, e em seguida os virions saem da célula por brotamento e alcançam a corrente sanguínea (SANTO, 2008; RIBEIRAL, 2006).

Essa replicação está associada à fase aguda da doença, com episódios febris entre sete a 21 dias pós-infecção. Com a infecção de macrófagos e a replicação viral há liberação de citocinas inflamatórias como as interleucinas 1 e 6 e o fator alfa de necrose tumoral também responsável pela febre e ainda por depressão e hiporexia. Ainda nesta fase pode ocorrer a presença do vírus em células endoteliais (CAVALCANTE, 2009).

A intensa viremia estimula a produção de anticorpos neutralizantes que formam o complexo vírus-anticorpo que se fixa nas hemácias desencadeando hemólise intra e extravascular e ainda depressão da produção de células sanguíneas em decorrência da exaustão da medula óssea provocando a anemia, sintoma principal da doença. O complexo vírus-anticorpo também se fixa na superfície das plaquetas sendo estas removidas pelos macrófagos teciduais levando a trombocitopenia (RADOSTITS et al., 2002; Moraes, 2011).

2.7 Sinais clínicos

A observações clínicas identificadas nos eqüídeos infectados podem ser divididas em aguda, associada à viremia, subaguda, com ciclos recorrentes da doença, e crônica assintomática, sendo o curso clínico variável e dependente da dose infectante, virulência da cepa, e susceptibilidade do animal (SANTOS, 2011).

O período de incubação do VAIE varia de três a 70 dias, entretanto equinos infectados naturalmente ou experimentalmente com o VAIE desenvolvem

normalmente a fase aguda da doença entre 15 a 20 dias pós-infecção (RIET-CORREA, 2007), caracterizada por febre intermitente, diarreia, letargia, anemia e trombocitopenia, hemorragias petequiais, edema nas partes baixas do corpo, podendo levar ao óbito do animal entre dez e 30 dias pós-infecção (CAVALCANTE, 2009). A frequência de episódios agudos da doença e a severidade dos sintomas clínicos normalmente diminuem com o tempo e geralmente estão completamente resolvidos um ano após a infecção, o que caracteriza a transição da fase subaguda para a fase crônica da doença (RADOSTITS et al., 2002).

Na fase subaguda os sintomas são menos drásticos, entretanto os animais ficam debilitados em decorrência da redução da imunidade, com mucosas ictéricas, não havendo presença de hemorragias petequiais (NOCITI, 2007). Os animais durante a fase crônica podem apresentar períodos de febre, normalmente após submetidos a condições de estresse, má nutrição ou imunossupressão por medicamentos, e ainda uma diminuição no desenvolvimento de suas funções, mas após um ano os animais tornam-se portadores assintomáticos (SANTO, 2008; CAVALCANTE, 2009).

2.8 Diagnóstico

As manifestações clínicas de hipertermia, anemia, depressão e letargia recorrentes, em áreas endêmicas para o agente são sugestivas da infecção pelo VAIE e devem ser investigadas. A detecção de anticorpos é o método laboratorial mais empregado para o diagnóstico da anemia infecciosa equina. O teste sorológico mais utilizado – e considerado o teste-padrão – é a IDGA (FLORES et al., 2007).

2.8.1 Diagnóstico Clínico

Os sinais não são conclusivos, dificultando assim o diagnóstico com base apenas na clínica. Entretanto, os sinais sugestivos são quadros recorrentes de febre, crises hemolíticas, edema ventral e perda de peso (SANTO, 2008).

2.8.2 Diagnósticos laboratoriais

Motta (2007) relata que até a década de 60 não haviam métodos diagnósticos adequados devido à dificuldade de isolamento viral *in vitro*. Com isso o diagnóstico era feito através da inoculação de sangue de um animal suspeito em um equino sadio, sendo este monitorado até o aparecimento dos sinais clínicos. Com o objetivo de mostrar a existência da presença do vírus no sangue de cavalos sem histórico da doença, porém positivos para AIE, inocularam sangue de cavalos assintomáticos, positivos para AIE em receptores sadios, resultando em animais positivos 24 dias após a inoculação (ISSEL, et al. 1982 apud SILVA; ABREU; BARROS, 2001).

Levando em consideração que aproximadamente 95% dos equídeos infectados pelo VAIE são assintomáticos, o suporte laboratorial assume importante papel no controle da enfermidade (BRASIL, 2008).

Nas técnicas hematológicas e de patologia clínica, observa-se que na fase aguda ocorre trombocitopenia moderada a intensa, diminuição do volume globular (VG) caído para um índice de 14 a 20%, leucopenia, com acentuada neutropenia e linfopenia. A presença de leucócitos contendo hemosiderina é sugestivo de AIE. As análises bioquímicas séricas pode haver o aumento da concentração de bilirrubina e diminuição da concentração de ferro sérico (RIBEIRAL, 2006).

Os achados patológicos na necropsia de animais nas fases ativas da doença são aumento de linfonodos, estando estes com coloração amarelo-acastanhada na região cortical, rins com coloração escura, esplenomegalia, edemas cutâneos, hemorragias nas serosas, icterícia, hepatomegalia, hiperplasia da medula óssea vermelha, caracterizando um quadro anatomopatológico de anemia hemolítica (SANTO, 2008).

Na microscopia há acúmulo de macrófagos e linfócitos em áreas do fígado, linfonodos, glândulas adrenais, baço, meninges e pulmões. Usualmente há presença de necrose de tecidos linfáticos, esteatose, hemosiderose no fígado, baço e linfonodos (RIET-CORREA, 2007).

Em 1970 o teste IDGA foi descrito por Coggins e Norcross (1970), sendo um teste sorológico confiável e que até hoje é o teste reconhecido como método padrão para o diagnóstico da AIE, devendo ser realizado com antígeno registrado e aprovado pelo Departamento de Defesa Animal (BRASIL, 2004).

Na padronização do IDGA era utilizado antígeno formado a partir do baço de equinos infectados com AIE para demonstrar a reação de fixação de complemento e o teste de Imunodifusão para detecção de anticorpos. O procedimento consiste na utilização de um antígeno extraído do baço de equinos no estágio agudo da doença que reage com anticorpos do soro de animais em um estágio mais tardio da doença (COGGINS E NORCROSS, 1971 apud FIORILLO, 2011).

O IDGA é uma prova qualitativa, reconhecida mundialmente como método diagnóstico para AIE por sua especificidade e fácil execução, sendo o teste oficial preconizado pela OIE e no Brasil, pelo MAPA (RIBEIRAL, 2006).

Este teste diagnóstico é obrigatório para o trânsito de equídeos e participação em eventos agropecuários e o resultado negativo do exame deve ser acompanhado do documento oficial de trânsito (BRASIL, 2004).

O antígeno utilizado atualmente é a proteína p26. As fases iniciais da doença podem resultar em teste falso-negativo, assim como em potros com idade inferior a seis meses de idade podem resultar em falso-positivos devido a reação com anticorpos colostrais (SANTO, 2008).

Para a interpretação da técnica de IDGA devem ser seguidas as recomendações da Portaria n. 84 de 1992, do MAPA, (MAPA, 1992), e do fabricante do kit usado na técnica (Figura 2). As linhas podem representar:

- **Negativo** (não reagente): as linhas formadas entre o Antígeno (Ag) e o soro controle positivo (SCP) se dirigem para cavidade onde se encontram as amostras testadas, sem encurvar-se (**A**);
- **Positiva** (Reagente): as linhas formadas entre Antígeno e SCP se fundem com aquelas formadas pelas amostras testadas e formam uma linha contínua de identidade total (**B**);

- **Fraco positiva:** a linha de precipitação de uma amostra fraca positiva tende a se formar mais próximo à cavidade onde se encontra a amostra que está sendo testada. Em casos de títulos baixos de anticorpos, pode-se visualizar somente uma convergência das duas linhas do controle, na direção da cavidade, onde se encontra o soro que está sendo testado. As amostras classificadas como fraco positivas serão consideradas amostras reagentes ao teste, podendo as vezes calçar uma inflexão em caso de títulos baixos (**C**);
- **Forte positiva:** a linha de precipitação de uma amostra com título alto de anticorpos apresenta-se como uma faixa difusa, entre as duas linhas de controle. Em casos extremos, pode haver a inibição da formação desta faixa e só serão visualizadas as duas linhas de controle, interrompidas, a mesma distância do soro testado, não se verificando nenhuma precipitação entre essas linhas (**D**);
- **Linhas inespecíficas:** não forma uma linha contínua com as do controle. Elas são formadas por outras reações antígeno-anticorpo que não aquela específica para AIE. Uma amostra pode produzir uma reação específica de AIE e uma linha de precipitação inespecífica (**E**).

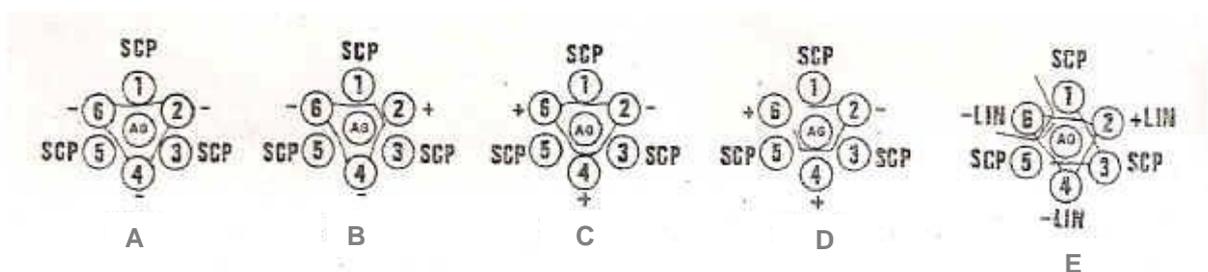


Figura 2 – Modelo de interpretação recomendado pela Portaria nº 84 do MAPA, 1992.

Outra técnica utilizada para o diagnóstico da AIE é o Ensaio Imunoenzimático (ELISA), técnica com maior sensibilidade e detectando animais positivos em torno de 12 dias pós-infecção e a possibilidade de execução de teste em um maior número de amostras por teste, até o ano de 2014 sendo utilizado para triagem de animais, que não era um teste oficial para trânsito. Em dezembro de 2014, a portaria nº 378, foi anexada a portaria nº 84 de 19 de outubro de 1992. Essa portaria anexo, alterou os métodos de diagnóstico para trânsito e destaca que o teste de

ensaio imunoenzimático (ELISA) passa a ser um testes indicado para o diagnóstico da Anemia Infecciosa Equina (AIE), entretanto destaca também que as amostras com resultado positivo no teste de ELISA devem ser submetidas ao teste de IDGA (MAPA, 2014).

Existem vários testes baseados nesta técnica como o ELISA de competição (cELISA) que detecta anticorpos anti-p26, o AS-ELISA que detecta anticorpos anti-gp45, e o ELISA que utiliza como antígeno o gp90 recombinante que vem sendo utilizado em MG, e detecta anticorpos precocemente. Devido a abundância de anticorpos anti-gp90 em animais infectados testes baseados nesses anticorpos favorecem a diminuição da ocorrência de resultados falso-negativos (RIBEIRAL, 2006).

Trabalhos demonstram que o ELISA gp90 pode ser considerado como método alternativo no diagnóstico da AIE no Pantanal Mato-grossense, uma vez que esta enfermidade apresenta alta prevalência nessa região (Nogueira et al., 2009).

Imunobloting utilizando com proteína recombinante p26 é uma técnica de confirmação, se tornando um diagnóstico confiável, podendo ser usado como exame complementar para confirmação de resultados conflitantes após realização de ELISA e IDGA, sendo um teste altamente sensível e específico baseado na resposta à proteína p26, mas que não pode ser usado para transito animal (ALVAREZ *et al.*, 2007).

É sempre importante o estabelecimento de técnicas mais sensíveis para o diagnóstico da AIE e as técnicas moleculares como o teste PCR, vem para contribuir para esse diagnóstico, principalmente na pesquisa, conseguindo realizar identificação de proteína viral em períodos de latência viral. O PCR identifica o ácido nucléico viral em tecidos e no plasma, entre três a quatro dias após a infecção experimental, possibilitando também a identificação de animais infectados, em estagio sub-clínico (CAVALCANTE, 2009).

2.9 Medidas de controle e prevenção

De acordo com a Instrução Normativa nº45 de 15 de Junho de 2004 para o controle da AIE, ao se detectar foco de AIE devem-se adotar medidas como interdição da propriedade notificando o proprietário da proibição de trânsito dos eqüídeos da propriedade e da movimentação de objetos passíveis de veiculação do VAIE, realização de investigação epidemiológica de todos os animais reagentes ao teste diagnóstico de AIE incluindo histórico de trânsito, marcação permanente dos eqüídeos portadores e isolamento desses animais, desde que o sacrifício não seja imediato, realização de exame diagnóstico de todos os eqüídeos existentes na propriedade, orientação aos proprietários das propriedades que se encontram na área perifocal pelo serviço veterinário oficial, para que submetam seus animais a exames laboratoriais para diagnóstico de AIE, eqüídeo com idade inferior a seis meses, filho de animal positivo, deverá ser isolado por 60 dias no mínimo e após este período ser submetido a dois exames para diagnóstico de AIE apresentando resultados negativos. A desinterdição da propriedade foco ocorrerá após realização de dois exames com resultados negativos consecutivos, com intervalo de trinta a sessenta dias, nos eqüídeos existentes (BRASIL, 2004).

Ainda como forma de controle foi instituído o Programa Nacional de Sanidade dos Eqüinos – PNSE, através da instrução normativa 17, de 8 de Maio de 2008, com o objetivo de fortalecer o complexo agropecuário dos eqüinos, através de ações de vigilância e defesa sanitária animal para prevenir, controlar e erradicar as principais doenças que afetam toda a cadeia produtiva dos eqüídeos. As ações do programa são educação sanitária, estudos epidemiológicos, controle do trânsito de animais, cadastramento, fiscalização e certificação sanitária das propriedades rurais, além de intervenção imediata quando houver suspeita ou ocorrência de doença de notificação obrigatória (BRASIL, 1992).

O diagnóstico laboratorial é fundamental tanto para a prevenção como para o controle, além disso, outras medidas essenciais são o isolamento dos animais positivos, a eutanásia desses animais, a realização de testes sorológicos periódicos nas propriedades, separação e quarentena de potros filhos de éguas positivas, bem como o controle de vetores e a manutenção de boas condições sanitárias com drenagem de pastos alagados e a manutenção adequada de bebedouros, assim

como a utilização individual de utensílios de manejo e trabalho, seringas e agulhas (MOTTA, 2007; RIBEIRAL 2006).

No Pantanal em decorrência da alta prevalência do VAIE a eutanásia se tornou inviável podendo impossibilitar a pecuária da região, sendo assim a EMBRAPA Pantanal optou por efetuar estudos que permitissem avaliar a real situação propondo uma estratégia prática para prevenção e controle (SILVA; ABREU; BARROS, 2001), criando um Programa de Prevenção e Controle da AIE no Pantanal. Programa com o objetivo de controlar a AIE preconizando a manutenção dos animais positivos nas propriedades, permitindo a sua utilização no manejo diário da fazenda, estimulando assim o diagnóstico e adoção de medidas profiláticas e de controle da doença nas propriedades (SILVA *et al.*, 2004).

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

Estudar soro-epidemiológico a situação da Anemia Infeciosa Equina em amostras de asininos e muares coletadas no município de Araci BA.

3.2 Objetivos específicos

- Diagnosticar a situação epidemiológica da Anemia Infeciosa Equina em asininos e muares na cidade de Araci BA, utilizando um inquérito epidemiológico.
- Realizar teste sorológico (IDGA) em amostras de soro asininos e muares.
- Analisar a ocorrência da enfermidade na cidade.
- Delimitar através do georreferenciamento as áreas de risco da enfermidade no município.

4 Materiais e métodos

4.1 Área de estudo

A investigação foi desenvolvida em propriedades do município de Araci – Bahia que fica localizado na latitude de 11° 20' 00" S, longitude de 38° 58' 00" W, altitude de 272m e área de 1576,3 Km² (Figura 3), localizado a 210 Km de Salvador – BA e na região do semiárido baiano, mais especificamente região do sisal, que tem um rebanho total de asininos e muares de 3890 (IBGE, 2006). Na investigação, as propriedades foram selecionadas aleatoriamente totalizando 96 propriedades, e foram georreferenciadas, e realizada a aplicação de um questionário epidemiológico abordando os principais fatores de risco relacionados ao manejo de criação dos animais.



Figura 3 - Localização geográfica do município Araci (BA),
Fonte: Google Maps, 2016.

4.2 Amostras

Foram coletadas amostras de 173 animais (4% do total, prevalência da AIE na Bahia), 151 asininos (*Equus asinus*) e 22 muares (*Equus mus*) de ambos os sexos, os animais tinham entre 2 e 29 anos de idade, foi coletado aproximadamente 9 mL com o auxílio de agulha descartável 40 x 12 e tubos estéreis de 10 mL sem anticoagulante, através da veia jugular, por meio de tubos vacuntainer (Figura 4). Os tubos foram devidamente identificados com o número da amostra, data e acondicionados em galerias de ferro, dentro de isopor com gelo reciclável. O questionário abordou questões quanto ao proprietário, nome do animal, espécie, idade, sexo e pelagem. As amostras foram acondicionadas na em gaveta de refrigerador ate ocorre a sedimentação de células vermelhas do sangue e ocorrendo a formação do soro, em seguida foram dessoradas e o soro congelado e acondicionado a - 4°C (Figura 5) e encaminhados ao Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI) do Hospital Universitário de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo até a realização do IDGA. Os proprietários que participaram assinaram um termo de esclarecimento e consentimento para posterior coleta das amostras sanguíneas dos animais. E no caso dos proprietários de um único animal, esse animal foi considerado como sendo de uma propriedade.



Figura 4 - Antissepsia seguida da coleta de sangue através da punção da veia jugular, utilizando agulha descartável 40x12mm e tubo sem anticoagulante. Fonte: Arquivo Pessoal.

Os asininos e muares deste estudo são na maioria, utilizados na lida diária das propriedades a exemplo da carroça, montaria, pastor bovinos, transporte de

sisal após seu beneficiamento e possuem baixos valores zootécnicos, não transitam com frequência, o diminuindo assim a exposição a fatores de risco por vetor (Figura 6).

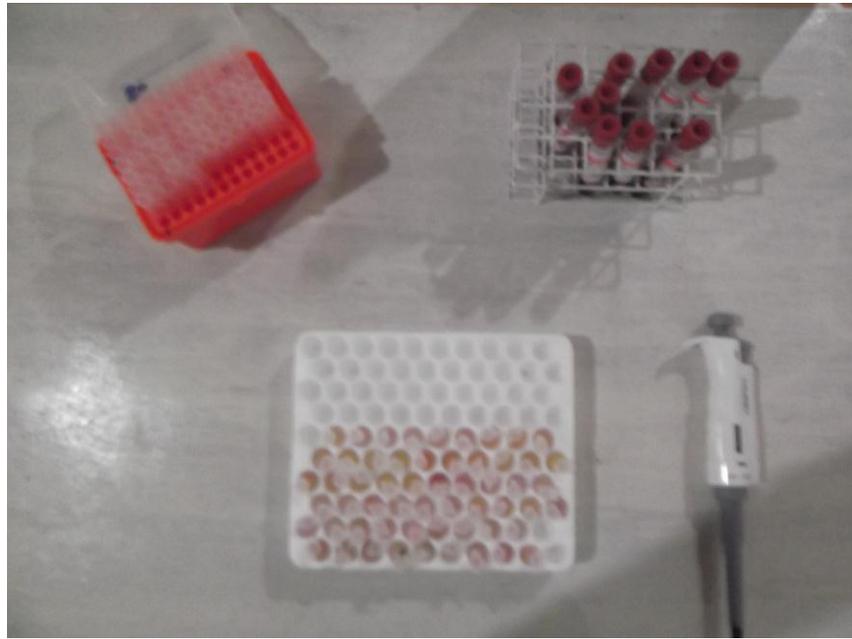


Figura 5 - Tubos com sangue coletado mantidos em geladeira para retração do coágulo e dessorado. Fonte: Arquivo Pessoal.



Figura 6 – Perfil dos animais usados na investigação. Fonte: Arquivo Pessoal.

4.3 Imunodifusão em gel de agarose (IDGA)

Para levantamento do diagnóstico sorológico da doença foi realizado o teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), que foi realizado no laboratório de Doenças Infecciosas (LDI) do Hospital Universitário de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), durante o mês de janeiro a março de 2016. A metodologia da técnica empregada foi a preconizada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 1992) preconizado pela Portaria 84/1992, ou também conhecida como clássica de Coggins e Nocrass modificada.

Para isso foi elaborado tampão borato utilizando 2g de hidróxido de sódio (NaOH) e 9g de ácido bórico (H_3BO_3), que foi diluído de forma separada em 1 litro de água destilada, o mesmo foi armazenado em geladeira e toda vez que iria ser utilizado era estabilizado com auxílio de um pHmetro mantendo um pH entre de 8,5 e 8,7. A medida que o pH diminuía era elevado utilizando gotas de hidróxido de sódio para que alcançasse o pH desejado.

O gel foi produzido utilizando agarose na concentração de 1%, onde foi diluído 1g de gel em 100 ml do tampão borato, em seguida dissolvido em microondas até ficar translúcido, momento em que o gel era diluído homogeneamente, em seguida foi feita alíquotas do gel em tubos de ensaio de vidro com 10 ml cada, posteriormente gel era esfriado em temperatura ambiente e armazenado em geladeira tampado com papel pardo. Todo material antes de serem usados era esterilizado previamente câmara de fluxo laminar por aproximadamente 15 minutos, incluindo: lâminas de microscopia, ponteiras, pipeta, pera de borracha, luvas de procedimento, perfurador de poços e termômetro.

Para realização do teste o gel foi despolimerizado em micro-ondas, onde o tubo de ensaio era posto dentro de um Becker de 25 ml virado com a boca para baixo, que era aquecido por aproximadamente um minuto para dissolução do gel onde chegava a uma temperatura de 85°C, e era esfriado em temperatura ambiente até alcançar 45°C, que era medido com utilização de termômetro digital, isso era realizado para que o gel tivesse uma melhor adesão à lâmina, haja vista que em

outras temperaturas não se alcançou sucesso. Após alcançar a temperatura desejada com auxílio de uma pipeta de 5 ml e uma pera de borracha acoplada, foi colhido 4,5 ml do gel e vertido em lâmina de microscopia ótica medindo 25x75 mm, sobre uma bancada de granito devidamente nivelada, posterior a sua solidificação completa em cada lamina foram perfurados 21 poços, com subsídio de uma roseta padrão de 7 furos, medindo 4 mm de diâmetro e 3 mm de distância entre os poços, o gel que ficava dentro dos poços proveniente do corte era retirado com uma agulha hipodérmica 30x0,8 cuidadosamente para que não danificasse os poços.

Foi distribuído 25 microlitros de cada reagente nos poços formados, onde no poço central era posto o antígeno, nos poços laterais foram distribuídos de forma intercalada o soro controle positivo e o soro a ser testado, em seguida as lâminas eram incubadas em câmara úmida, a umidade da câmara era proveniente de papel toalha irrigado com água destilada, que era disposto na câmara cobrindo toda a base da câmara e de forma a não apresentar inclinação evitando falhar na interpretação, que mantinha a câmara a uma temperatura de 20° a 25°C, no período de 48 horas.

Para a realização do teste foi adquirido um Kit do Laboratório Bruch Ltda., a técnica recomendada pelo fabricante é corroborada pela Portaria 84 de 19 de Outubro de 1992, do Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária (MAPA, 1992). O kit fornecido pelo Laboratório Bruch Ltda., tinha partida 001/15, com data de fabricação de maio de 2015 e validade de dois anos.

5 Resultados

Durante o trabalho foi coletado 173 amostras, destas 151 (87%) sendo de asininos e 22 (13%) de muares, foram submetidas ao teste de IDGA e nenhuma amostra, foi reagente ou positiva. Todas as amostras de asininas e muares (100%) não apresentaram nenhuma reação ao teste (Figura 7), sendo negativas todas as amostras (Gráfico 1).

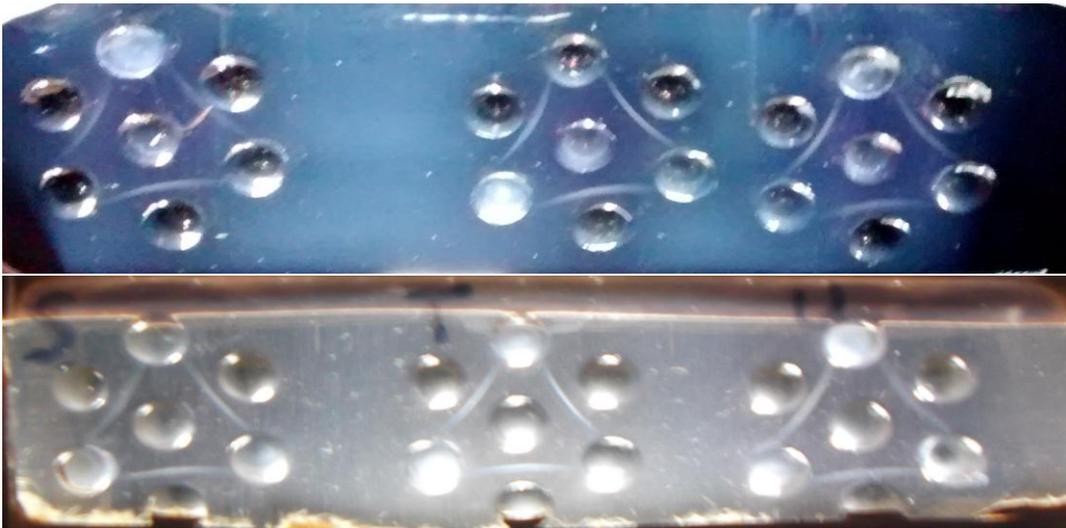


Figura 7 – Reação negativa identificado em 100% das amostras testadas segundo instruções da Portaria nº 84 do MAPA, 1992.

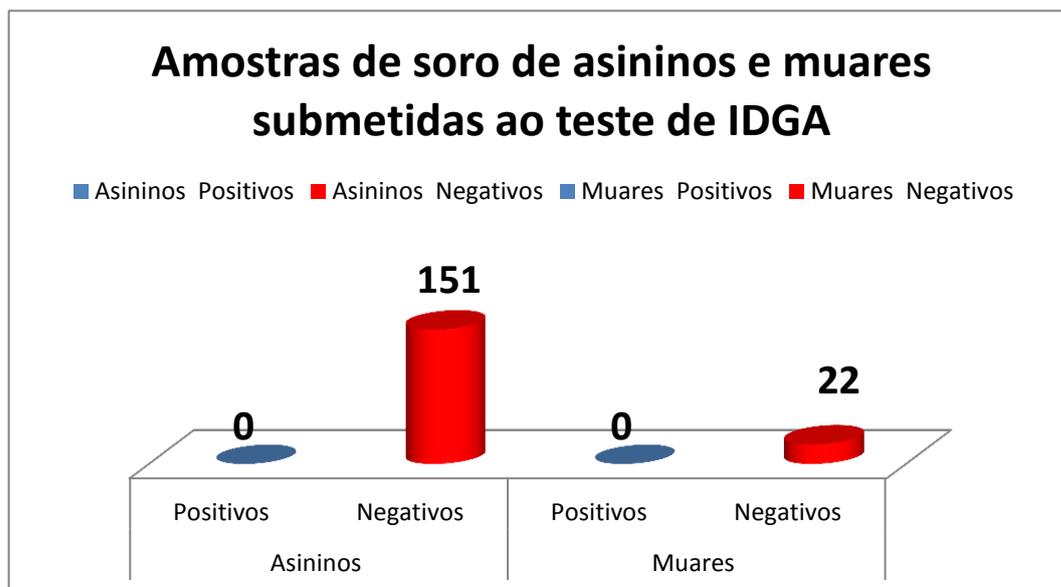


Gráfico 1 - Amostras de soro de asininos, muares, coletados no município baiano de Araci - BA, submetido ao teste de IDGA para o diagnóstico de Anemia

Durante as visitas de coletas foram demarcados os pontos de coletas das amostras para caráter de identificar uma possível região endêmica da enfermidade em caso de animais positivos, associando assim o animal positivo ao ponto georeferenciado (Figura 8). Tendo em vista que nenhuma amostra se apresentou positiva, o resultado do georreferenciamento demonstrou que os asininos e muares estão mais localizados em pequenas propriedades, próxima ao centro urbano, demonstrando que o animal ainda é muito utilizado por pequenos produtores em atividade de subsistências em suas propriedades, conclusão essa que é confirmada pelo questionário epidemiológico aplicado nas 96 propriedades aplicadas, na qual cerca de 56% dos animais foram submetidos a atividade de carroça e 34% para montaria, justificando de certo modo a ausência de animais positivos, tendo em vista que poucos ou quase nenhum deles participam de atividades esportivas (Gráfico 2).

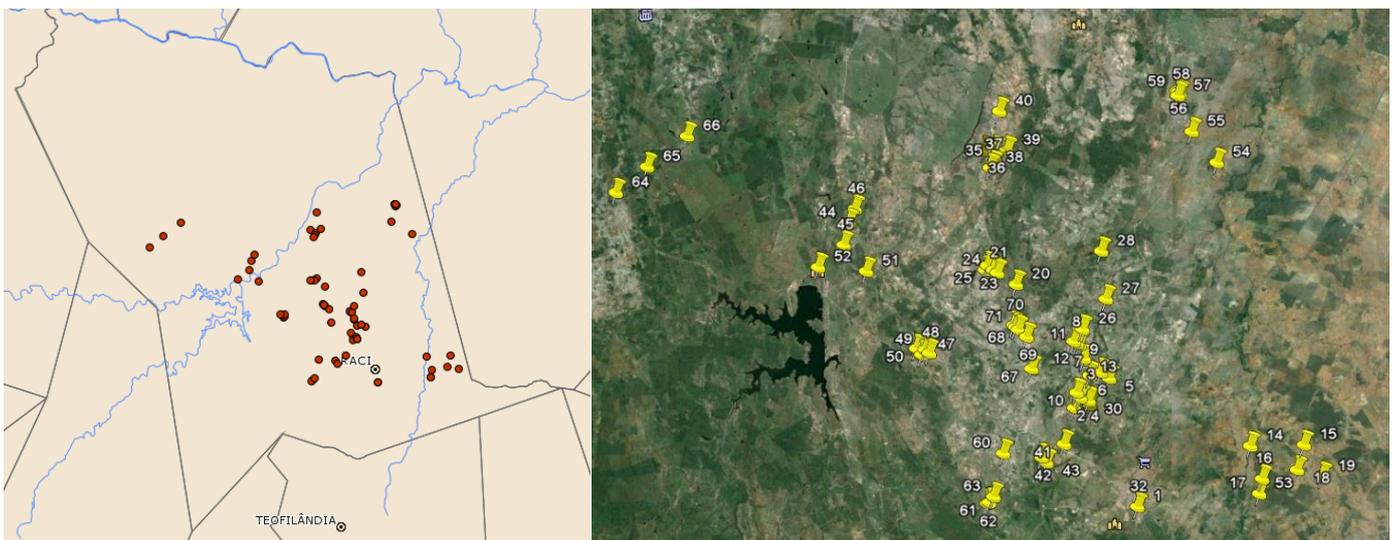


Figura 8 – Localização da região onde as propriedades onde as amostras de sangue de asininos e muares foram coletadas se encontram.

No questionário epidemiológico foi realizada perguntas referente a elevação do nível de risco de contaminação com a enfermidade por parte dos asininos e muares. Perguntas como criação consorciadas com equinos que participar de eventos esportivos, podendo ser portadores da enfermidade para propriedade, onde dos 173 animais da pesquisa 55 deles vivem em consocio com equinos que participam de atividades como vaquejada, cavalgada e argolinhas. Outro risco

identificado foi que 27% das propriedades entrevistadas relatam que usam a agulha de forma coletiva (Gráfico 3), transferindo sangue de um animal para outro, mesmo que não tenha a ação da mutuca. E por fim uma identificação de risco na região como um todo já que 95 % das propriedades visitadas nunca tinha feito um exame de anemia infecciosa equina nos seus equinos, asininos e muares, agravando o risco de disseminação silenciosa da enfermidade (Gráfico 4).

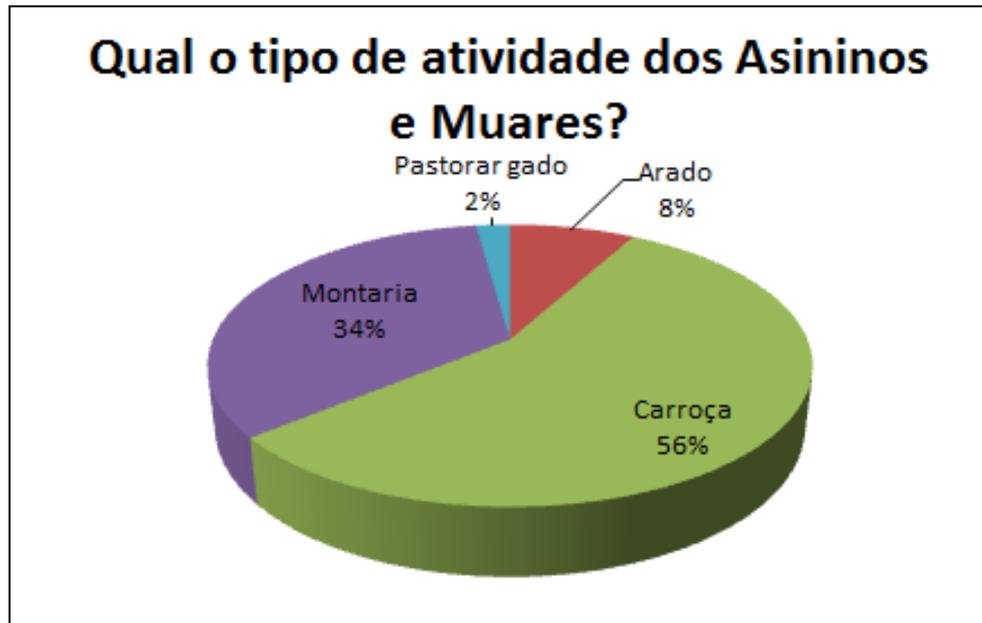


Gráfico 2 – Atividade desenvolvida pelos asininos, muares, coletados no município baiano de Araci – BA.

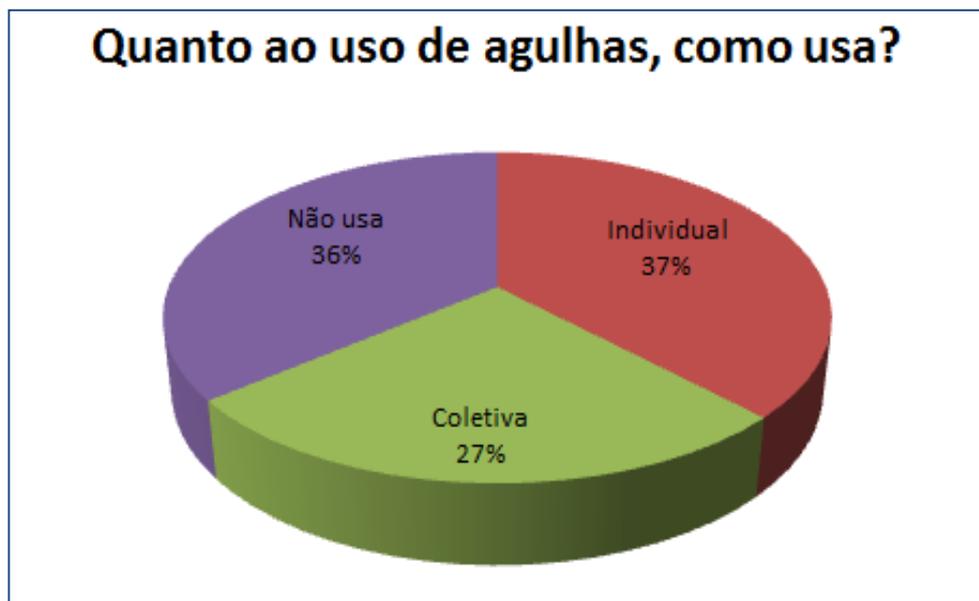


Gráfico 3 – Forma de utilização de agulhas em momento de vacinação e aplicação de medicação nos asininos, muares, coletados no município baiano de Araci – BA.

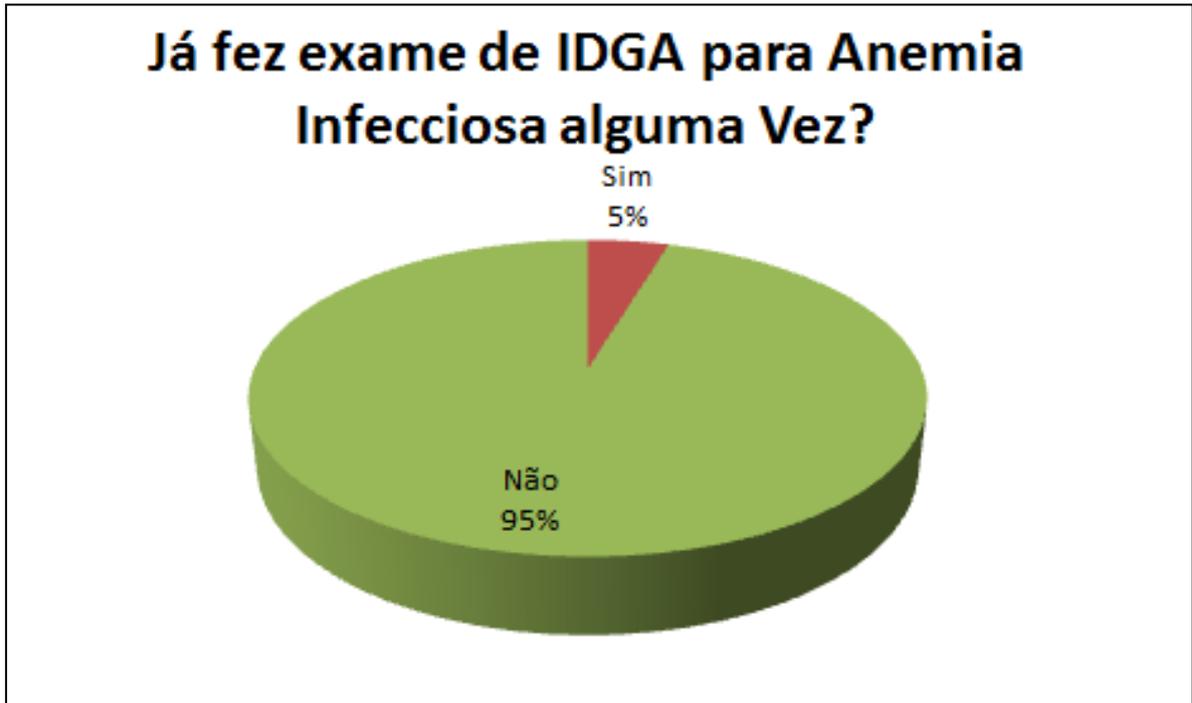


Gráfico 4 – Quanto a realização de exames de IDGA para controle da doença nos asininos, muares, coletados no município baiano de Araci – BA.

6 Discussão

Rosa et al. (2012), nos municípios de Lage e Mutuípe Bahia, submeteram ao teste IDGA 205 amostras, de equinos, asininos e muares, desta apenas nove (4,39%) foram fraco positivas, essas amostras positivas foram todas de equinos, as de asininos e muares não apresentaram nenhuma reação ao teste, sendo negativas. Esse resultado assemelha-se ao do presente estudo nos quais não foram encontradas amostras reagentes para asininos e muares submetidos ao IDGA, reforçando a maior prevalência da enfermidade nos equinos.

Para Chaves et al. (2011), a atividade de tração é desenvolvida em maior percentual pela espécie asinina, o que condiz com o maior percentual de asininos apreendidos em rodovias e ruas publicas, corroborando com os resultados encontrados neste estudo que nas visitas as 96 propriedade do estudo encontrou o asinino em 87% delas.

Chaves et al. (2014) realizou uma investigação onde analisou 154 amostras, que foram constituídas de animal de tração com 144 asininos, oito de equinos e

duas de muares, com os resultados laboratoriais por espécie animal, foi observada a ocorrência total de 5,20% (8/154) de AIE. Para as espécies asinina e equina e para os muares foram verificadas ocorrências de 1,94%, 2,60% e 0,65%, respectivamente. Assemelhando-se a este estudo que também encontrou índices baixos para asininos e muares.

Motta et. al. (2007) realizou uma comparação do perfil sorológico e detecção do vírus em asininos e muares naturalmente infectados, relatando que asininos e muares podem apresentar níveis de anticorpos inferiores aos eqüinos, além de níveis mais baixos de vírus e ácidos nucléicos no plasma contribuindo para comprovar que os muares e asininos, por terem respostas sorológicas e viremia diferentes dos eqüinos, constituem-se em potenciais reservatórios. Esses resultados podem justificar, a ausência de animais soropositivos nesta pesquisa, o que não descarta a possibilidade de o vírus esta na região.

Apesar de algumas literaturas demonstrarem a baixa incidência da enfermidade em asininos e muares, Cavalcante et. al. (2009), observou que em Mossoró, RN, houve diferença significativa na prevalência dos muares em relação aos equinos e asininos, que por sua vez não tiveram diferença entre eles, e relatou que os muares, por serem animais mais resistentes ao trabalho, são utilizados por um maior período de tempo, conseqüentemente expondo o animal por mais tempo ao vírus durante a sua vidas. Isso reforça os resultados identificados neste trabalho que observol que apesar de baixo índice em algumas espécies o risco da presença da enfermidade na região é alto.

7 Conclusão

Os resultados obtidos nesta pesquisa, considerando-se a análise e interpretação dos aspectos sorológicos da AIE nos asininos e muares investigados, permitiram concluir que apesar de não ter sido identificada a ocorrência de amostras positivas ao IDGA, foram constatados inúmeros fatores de risco para a enfermidade, a exemplo de utilização de agulhas de forma coletiva por muitas propriedades, demonstrando que risco para disseminação da AIE estão presentes na cidade, sem falar na ausência de conhecimento sobre AIE.

Referências

Alvarez I, Gutierrez G, Vissani A, Rodriguez S, Barrandeguy M, Trono K. Standardization and validation of an agar gel immunodiffusion test for the diagnosis of equine infectious anemia using a recombinant p26 antigen. *Vet Microbiol.* 2007;(121): 344-51.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária Municipal.** Brasília, 2012.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 17, de 8 de maio de 2008, da secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em : <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em 21 de março de 2016.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 45, de 15 de junho de 2004 da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/>>. Normas para controle e prevenção de AIE. Acesso em: 10 de abril de 2016.

BROWN, C. M.; BERTONE, J. J. Consulta Veterinária em 5 Minutos: Espécie eqüina. Barueri: Manole, 2005. p.562-563.

CARVALHO JÚNIOR, ORE CIO MAXIMO DE. Anemia Infeciosa Eqüina - A "AIDS~ do Cavalo. Revista de Educação Continuada do CRMV-SP. São Paulo, fascículo I, volume I, p. 016 - 023, 1998

CAVALCANTE, P. H. Risco de transmissão do vírus da anemia infecciosa eqüina por eqüídeos errantes no município de Mossoró-RN. 2009. 45 f. Dissertação (Mestrado em Ciência animal: produção e sanidade animal) – Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mossoró, 2009.

Chaves N P, Bezerra D C, Guerra P C, Pereira H de M, Santos H P, Vulcano L C. Lesões Podais em Asininos (*Equus Asinus*) utilizados em veículos de tração animal na cidade de São Luís, Maranhão. *Ciência Animal Brasileira.* 2011; 12(2): 365-370. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5216/cab.v12i2.8953>.

Chaves N P, Bezerra D C, SANTOS H P, Pereira H de M, Guerra P C, SILVA A L . OCORRÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À IDENTIFICAÇÃO DA

ANEMIA INFECCIOSA EQUINA EM EQUÍDEOS DE TRAÇÃO. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v.15, n.3, p. 301-306, jul./set. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cab/v15n3/a08v15n3.pdf>

COGGINS L., NORCROSS N.L. & NUSBAUM S.R. Diagnosis of equine infectious anaemia by immunodiffusion test. *Am J. Vet. Res.*, 33, 11-18, 1971.

FIORILLO, K. S. Prevalência de Anemia Infecciosa Equina em Haras de Minas Gerais/ Orientação de Vitor Salvador Picão Gonçalves – Brasília, 2011. 47 p. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, 2011.

FLORES, E.F.; Retroviridae. In: **Virologia veterinária**. – Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2007. p.809-830.

FRANCO, M.M.J; PAES, A.C. Anemia infecciosa equina. Revisão de Literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n.2, p.197-207, 2011.

Guimarães L. A., Bezerra R. A., Mendonça C. E. D'A., D'Afosenca W. O. e Albuquerque G. R.; Prevalência do vírus da anemia infecciosa equina na mesorregião do sul baiano, Bahia, Brasil. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 33(2):85-88, abr/jun 2011

Hammond SA, Li F, McKeon BMS, Cook SJ, Issel CJ, Montelaro RC. Immune responses and viral replication in long-term inapparent carrier ponies inoculated with equine infectious anemia virus. *J Virol*. 2000, 74:5968-5981

HAMMOND, S.A.; COOK, S.J.; LICHTENSTEIN, D.L. et al. Maturation of the cellular and humoral immune responses to persistent infection in horses by equine infectious anemia virus is a complex and lengthy process. *J. Virol.*, v.71, p.3840-3852, 1997

IBGE. Censo Agropecuário 2006. NOTA: Os dados com menos de 3 (três) informantes estão desidentificados, apresentando a expressão Não disponível, a fim de evitar a individualização da informação.

ISSEL, C.J.; ADAMS JUNIOR, W.V.; MEEK,L. et al. Transmission of equine infectious anemia virus from horses without clinical signs of disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*,v.180, n.3, p.272-275, 1982.

Karam C H V, Rolim M F, Graça F A S, Aragão A P. Anemia infecciosa equina no estado do Rio de Janeiro: aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. Revista Eletrônica Novo Enfoque. 2010; 09(09): 01-13. Disponível em: <http://www.castelobranco.br/sistema/novoenfoco/files/09/artigos/01.pdf>.

Maidana N. A, Bassanezi R C. Modelagem da dinâmica da anemia infecciosa equina. Biomatemática. 2011; 21: 87-102. Disponível em: http://www.ime.unicamp.br/~biomat/bio21_art7.pdf.

MAPA. PORTARIA Nº 378, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2014, Anexo a Portaria Nº 84 d 19 de Outubro DE 1992. Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Anemia Infecciosa Equina. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://www.idaron.ro.gov.br/portal/legislacao/arquivos/exibir.ashx?arquivo=271&especie=Portaria&Num=378&ano=2014>. Acesso em: Fevereiro, 2016.

MAPA. Portaria Nº 84 d 19 de Outubro DE 1992. Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Anemia Infecciosa Equina. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/defesasanimariaanimal/files/2012/10/PORTARIA-%C2%BA-84-DE-19-DE-OUTUBRO-DE-1992.-Aprova-as-Normas-de-Credenciamento-e-Monitoramento-de-Laborat%C3%B3rios-de-Anemia-Infecciosa1.pdf>. Acesso em: Janeiro, 2016.

MONTELARO, R.C.; BALL, J.M.; RUSHLOW, K.E. Equine retroviruses. In: LEVY (Ed.). The retroviridae. New York: Plenum Press, 1993. v.2, Cap.5, p.257-359.

Moraes, D. D. A. Prevalência de mormo e anemia infecciosa equina em equídeos de tração do Distrito Federal. / Daniella Dianese Alves de Moraes orientação de José Renato Junqueira Borges. Brasília, 2011. 85 p.: il. Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

MOTTA, P. M. C. **Comparação da IDGA ELISA e “NESTED” PCR no diagnóstico da anemia infecciosa equina em eqüinos, asininos e muares.** 2007. 26f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais, 2007.

NOCITI, R. P.; ROCHA, T. G.; AVILA, M. O.; SILVA, G. C. P. Prevalencia da Anemia Infecciosa Equina no Estado de Mato Grosso 2004-2007.

NOGUEIRA, M.F.; NETO, A.A.C.; JULIANO, R.S. et al. ELISA rgp90 – Metodologia Alternativa para o Diagnóstico da Anemia Infecciosa Equina no Pantanal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. EMBRAPA, v.93, p.1-19, 2009.

PENA, L. J.; PENA D. A.; BARRIOS, P. R.; DALE, R.; LAMÊGO, M. R. de A.; MORAES, M. P. Levantamento soro-epidemiológico as infecção pelo vírus da Anemia Infecciosa Equina, da Influenza Equina-2 e do Herpesvirus Eqüino-1 em rebanhos do sul do Estado do Pará, Brasil. **Brazilian Journal of veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.43, n.4, p.537-542, 2006.

Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Retroviridae. In: **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. 2ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed; 2005. p.346-58.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Doenças bacterianas – V. IN: - Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, Cap.20, p.850-915.

RIBEIRAL, C. B. Anemia infecciosa equina. Monografia. UPIS - Faculdades Integradas, Planaltina – DF, 2006.

RICHTER, W. Anemia infecciosa equina. In: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1999. p. 211-218.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. D.; LEMOS, R. A. A.; **Doenças de Ruminantes e Eqüinos**, Vol 1, São Paulo: Varela, 2007, p.49-54.

ROSA, M. R. G.; MOREIRA, T. B. M. B.; RIBEIRO, A. A. S.; GRANA, J. C. S.; SANTOS, M. P. J. B.; RIBAS, J. R. L. OCORRÊNCIA DA ANEMIA INFECCIOSA EQUINA NA BAHIA NO PERÍODO DE JANEIRO 2009 A FEVEREIRO 2012. In: Anais da III Conferência Nacional sobre Defesa Agropecuária. Salvador, BA, 23 a 27 de abril de 2012. 136p.

ROSA, M.G.R.; LOPES, C.; CURVELO, V.P.; RIBEIRO, M.; BITTENCUORT, D.; MASCARENHAS, M.T.; BAHIA, R.C. Levantamento soropidemiológico da Anemia Infecciosa Equina nos municípios Baianos de Lage e Mutuípe no período de Setembro a Dezembro 2009. Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient., Curitiba, v. 10, n. 1, p. 11-19, jan./mar. 2012

SANTO, D. P. E. do. Anemia Infecciosa Equina. 2008. 13f. Monografia(Especialização em defesa e vigilância sanitária animal). Universidade CasteloBranco, Campo Grande, 2008.

Santos EM, Motta PMC, Heinemann MB, Leite RC, Reis JKP. Avaliação da nested PCR em comparação aos testes sorológicos IDGA e ELISA para o diagnóstico da anemia infecciosa eqüina. Arq Bras Med Vet Zootec. 2011;63:296-301.

Silva, R. A. M, S. Programa de Prevenção e Controle da Anemia Infecciosa Eqüina no Pantanal Sul-Mato-Grossense. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2004. 17p.; 16 cm. (Documentos / Embrapa Pantanal, ISSN 1517-1973; 68).

SILVA, R. A. M. S; ABREU, U. G. P; BARROS, A. T. M.; Anemia Infecciosa Eqüina: Epizootiologia, Prevenção e Controle no Pantanal. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2001. 30p.

STECK, W. -Investigation on the epidemiology of equine infectious anemia. In: INTERNATIONAL CONFERENCE EQUINE INFECTIOUS DISEASES, 2. Paris, Proceedings. p.172- 73,1969.

Tim Cordes, D.V.M., and
Chuck Issel, D.V.M., Ph.D. EIA--A Status Report on Its Control , 1996.

ANEXO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO - TCC

Nome Animal: _____.

Nome Proprietário: _____.

Endereço: _____.

Telefone: _____. Número da Amostra: _____.

Data: ____/____/____.

Questionário Epidemiológico

1. Qual o tipo de criação o animal e submetido?
Livre ao pasto () Preso em Baias ()
2. Quais animais possuem na propriedade?
Bovinos () Caprinos () Ovinos () Eqüinos () Asinino/Jegues () Mula/burro () Cão ()
Gato () Animal Silvestre ().

Vivem Juntos (Criação Consorciada)? Sim () Não ()
3. Se cria eqüino? Já o levou para participar de eventos esportivos?
Sim () Não ()
Quais:
() Vaquejada; () Cavalgada; () Argolinha; () Outros _____.
4. O animal já foi vacinado?
Sim () Não ()
Quais: _____.
5. O animal já tomou algum remédio?
Sim () Não ()
Quais: _____.
6. Ao aplicar a vacina ou remédio, no uso da seringa e agulha, foi utilizada de qual forma?
() 1 seringa e agulha **para cada animal** (Individual);
() 1 seringa e agulha **para mais de um animal** (Coletivo);
7. Já realizou alguma vez o exame para diagnosticar Anemia Infecciosa Eqüina no seu animal?
Sim () Não ()
Quantas Vezes? _____.
Qual a razão? _____.
8. Qual o tipo de alimentação do Animal?
Ração () Feno () Pasto () Ração e Feno () Ração e Pasto () .
9. Qual o tipo de trabalho do Animal?
Ocioso () Carroça () Montaria () Pastorar Gado () Vaquejada () Argolinha () Cavalgada () .
10. O Animal tem acompanhamento com Medico Veterinário?
Sim () Não ()

Projeto: Levantamento soroepidemiológico da Anemia Infecciosa Equina (AIE) em asininos e muaras no município de Araci – BA

RESENHA

REQUISIÇÃO DO TESTE DE IMUNODIFUSÃO PARA DIAGNÓSTICO DA ANEMIA INFECCIOSA EQUINA

Proprietário do Animal:		Município:					
Médico Veterinário:	CRMV:	Município					
Nome do Animal:		Classificação:					
Reg./Nº da marca:	Espécie:	JC	SH	H	FC	UM	OUTRO
Raça:		Nº de Equídeos existentes:					
Sexo:							
Idade:							
Propriedade onde se encontra:		Município:					
RESENHA:							
Pelagem:							
<p>Diagrama de um cavalo com as seguintes rotulações:</p> <ul style="list-style-type: none"> Lado direito Lado esquerdo Esquerdo Direito Membros anteriores visto posterior Membro posteriores visto posterior Pescoço Vista inferior Focinho Linha Superior dos olhos 							
DESCRIÇÃO DOS SINAIS:							
Assinatura e carimbo do Médico Veterinário Requisitante:							

Projeto: Levantamento soropidemiológico da Anemia Infecciosa Equina (AIE) em asininos e muarens no município de Araci – BA

TERMO DE ESCLARECIMENTO:

O senhor (a) está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa **Levantamento soroepidemiológico da Anemia Infecciosa Equina (AIE) em asininos e muares no município de Araci – BA**, como trabalho de conclusão de curso, sobre orientação do prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira. A AIE é uma doença de notificação obrigatória, de extrema importância no aspecto sanitário e econômico, pois além de levar à morte, pode tornar outros indivíduos portadores assintomáticos da doença sendo potentes disseminadores, resultando no sacrifício dos animais acometidos obrigatoriamente na maioria das regiões do país. O objetivo do presente trabalho é verificar a ocorrência da AIE em propriedades rurais e urbanas no município de Araci – BA, a partir do levantamento sorológico e da avaliação das características climáticas e de manejo animal, a partir de questionário epidemiológico, e avaliar o desempenho dos testes sorológicos recomendados para o diagnóstico da AIE. Sua participação é de caráter **voluntário** não obrigatório e trará benefícios para toda a comunidade científica e acadêmica interessada. **É garantida a confidencialidade das informações geradas e a privacidade do proprietário e de seu animal sobre os resultados encontrados.**

TERMO DE CONSENTIMENTO:

Ciente do projeto que foi anteriormente exposto, eu _____, estou de acordo em participar desta pesquisa, autorizando assim o uso do resultado da mesma para publicações científicas a respeito do tema, assinando este consentimento em duas vias, ficando com a posse de uma delas.

Cruz das Almas _____, de _____ de 20_____

Assinatura