



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

PREVALÊNCIA DE MORMO E ANEMIA INFECCIOSA EQUINA EM EQUÍDEOS DE TRAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL

DANIELLA DIANESE ALVES DE MORAES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF

SETEMBRO/2011



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

PREVALÊNCIA DE MORMO E ANEMIA INFECCIOSA EQUINA EM EQUÍDEOS DE TRAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL

DANIELLA DIANESE ALVES DE MORAES

ORIENTADOR: JOSÉ RENATO JUNQUEIRA BORGES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: DM 044/11

BRASÍLIA/DF

SETEMBRO/2011

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

MORAES, D.D.A. **PREVALÊNCIA DE MORMO E ANEMIA INFECCIOSA EQUINA EM EQUÍDEOS DE TRAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2011, 85 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Moraes, Daniella Dianese Alves de

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.

1. Equídeos de tração. 2. Distrito Federal.
3. Prevalência. 4. Mormo. 5. Anemia Infecciosa Equina. I. Borges, J. R. J. II. Doutor

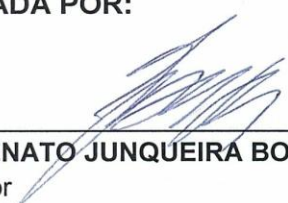
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

PREVALÊNCIA DE MORMO E ANEMIA INFECCIOSA EQUINA EM EQUÍDEOS DE TRACÇÃO DO DISTRITO FEDERAL


DANIELLA DIANESE ALVES DE MORAES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS –
GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL,
COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM SAÚDE ANIMAL


APROVADA POR:



JOSÉ RENATO JUNQUEIRA BORGES, DOUTOR (FAV – Universidade de Brasília) –
Orientador



HÉLIO VILELA BARBOSA JÚNIOR, DOUTOR (Ministério da Agricultura, Pecuária e
Abastecimento) – Examinador Externo



MARCOS BRYAN HEINEMANN, DOUTOR (Universidade Federal de Minas Gerais) –
Examinador Externo

BRASÍLIA/DF, 13 de Setembro de 2011.

DEDICATÓRIA

Dedico ao meu filho e ao meu marido por todo amor e carinho e a todos que de alguma forma se beneficiem dos resultados obtidos neste estudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre iluminar meus caminhos e permitir que eu tenha saúde e força para alcançar meus objetivos.

Ao meu filho por todas as palavras de carinho e pelo amor imensurável.

Ao meu marido por todo amor, carinho, companheirismo, paciência e dedicação.

Aos meus pais pelo apoio, incentivo, paciência e pelos ensinamentos e valores para uma vida inteira.

Às minhas irmãs pelos momentos descontração e amizade.

Ao meu orientador, Prof. José Renato Junqueira Borges, pelos ensinamentos, amizade e apoio.

Ao meu co-orientador, Prof. Vitor Salvador Picão Gonçalves por toda colaboração e incentivo.

A todos os colegas de trabalho da SEAPA-DF que contribuíram para a execução deste trabalho.

A todos que de alguma forma me ajudaram a concluir esta etapa da minha vida.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
2.1 Mormo	5
2.1.1. Etiologia	5
2.1.2. Histórico e Epidemiologia.....	6
2.1.3. Patogenia e Transmissão.....	9
2.1.4. Sinais Clínicos.....	11
2.1.5. Diagnóstico.....	11
2.1.5.1. Fixação de Complemento.....	12
2.1.5.2 Teste da Maleína (Maleinização)	16
2.1.5.3 cELISA (Ensaio Imunoenzimático Competitivo).....	17
2.1.5.4 Teste do Rosa Bengala em Placa de Aglutinação (RBT)	17
2.1.5.5 Cultura Bacteriana.....	18
2.1.5.6 Prova de Strauss.....	19
2.1.5.7 Teste da Hemaglutinação Indireta (IHAT)	19
2.1.5.8 Reação de Cadeia em Polimerase (PCR).....	20
2.1.5.9 Histopatologia	20
2.1.6. Controle e Profilaxia.....	21
2.2. Anemia Infecciosa Equina.....	22
2.2.1. Etiologia	22
2.2.2. Histórico e Epidemiologia.....	23
2.2.3. Patogenia.....	26
2.2.4. Sinais Clínicos.....	27
2.2.5. Diagnóstico.....	28
2.2.6. Profilaxia	30
3. OBJETIVOS	32
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

MATERIAIS E MÉTODOS	45
Amostragem	45
Coleta de Material e Questionário Epidemiológico	46
Cálculo da Prevalência	48
RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
CONCLUSÃO	54
MATERIAIS E MÉTODOS	62
Amostragem	62
Método de Diagnóstico	64
Cálculo da Prevalência em Propriedades e Animais	65
RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
Prevalência em Propriedades e Animais	66
Análise de Fatores de Risco	67
CAPÍTULO IV	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
ANEXO I – QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO	75

RESUMO

A equideocultura possui grande importância econômica e social no Brasil e algumas doenças causam prejuízos consideráveis aos proprietários, principalmente, aquelas onde é obrigatória a eutanásia dos animais positivos, como o mormo e a anemia infecciosa equina. Com o objetivo de se conhecer a situação epidemiológica dessas doenças em equídeos de tração do Distrito Federal, foi estimada a prevalência e realizada a identificação de possíveis fatores de risco associados a elas. Foram sorteados aleatoriamente 350 proprietários e foram amostrados todos os equídeos de cada proprietário sorteado, totalizando 496 animais. Para o diagnóstico do mormo, foi realizada a triagem com o teste de fixação de complemento (FC) e os animais reagentes foram submetidos a dois testes da maleína consecutivos com intervalo de 45 dias. Nenhum animal apresentou resultado positivo ao teste da maleína e estes resultados permitiram concluir com 95% de confiança que, se a doença estiver presente no DF, a sua prevalência é inferior a 0,85%. O diagnóstico da AIE foi realizado por meio da técnica de imunodifusão em ágar gel (IDGA). A prevalência de AIE estimada para proprietários foi de 2,29% intervalo de confiança (IC) 95% = [1,01% - 4,2%] e, para animais, a prevalência foi de 1,81% intervalo de confiança (IC) 95% = [0,55% - 3,07%]. Este estudo demonstra que ambas as doenças estão controladas na população de equídeos de tração, porém, o serviço oficial deve manter a vigilância ativa a fim de evitar novos focos de mormo e não deve medir esforços para reduzir a prevalência da AIE no DF por meio da exigência de exames periódicos dos animais e melhor controle da entrada de equídeos provenientes de áreas onde é desconhecida a prevalência da AIE.

Palavras-chave: equídeos de tração, Distrito Federal, prevalência, mormo, anemia infecciosa equina.

ABSTRACT

GLANDERS AND EQUINE INFECTIOUS ANEMIA PREVALENCE IN TRACTION EQUIDS FROM DISTRITO FEDERAL

Horse breeding has a great economical and social importance in Brasil and some diseases cause economic losses to the owners, mainly, because of the obligation to eliminate the test positive animals, like glanders and equine infectious anemia (EIA). With a view to determining the epidemiological situation of these diseases in traction equids from Distrito Federal, it was estimate the prevalence and identified possible potential risk factors associated to them. Three hundred and fifty owners were randomly sampled and all equids from each random owner were sampled, totalizing 496 animals. Glander's diagnostic was based in a screening with complement fixation test (CFT) and the positive animals were submitted to two consecutives mallein tests with the interval of 45 days. None of the animals was glanders positive and was observed that, if the disease exists in DF, there is a probability of 95% that the prevalence is lower than 0,85%. The EIA's diagnostic was realized using the agar gel immunodiffusion test (AGID). The prevalence was estimated at 2.29% confidence interval (CI) 95% = [1.01% - 4.2%] for owners testing positive and 1.81% confidence interval (CI) 95% = [0.55% - 3.07%] for horses. This study demonstrated that both diseases are controlled in traction equids population, however, the official service should keep active vigilance with the objective of prevent new glander's focus and should effort to reduce the EIA's prevalence in DF demanding periodic tests of these animals and improving the entrance control of equídeos originary from areas where the EIA's prevalence is not known.

Keywords: traction equids, Distrito Federal, prevalence, glanders, equine infectious anemia.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Os equinos (*Equus caballus*) e asininos (*Equus asinus*) são membros da família dos equídeos. A família Equidae evoluiu ao longo de vários milhões de anos, desde animais florestais de pequenas dimensões até ao cavalo moderno e seus contemporâneos do gênero *Equus*. Todos os sete membros da família dos equídeos são do mesmo gênero, *Equus*, e podem relacionar-se e produzir híbridos, não férteis, como as mulas. Pertencem à ordem dos perissodáctilos do qual fazem parte rinocerontes e antas (SILVER, 1976).

A domesticação dos cavalos foi muito importante para o desenvolvimento das civilizações asiáticas e europeias. Isso ocorreu há 3 mil anos atrás. Na Europa Ocidental, até a Idade Média, a posse e o uso do cavalo eram exclusivos da casta aristocrática dos cavaleiros, que o empregava na guerra, no jogo e na ostentação social. Além de seu emprego militar, o cavalo foi usado como animal de carga e de sela, como animal de atrelamento, para bater cereais ou para a movimentação de mecanismos destinados a moer ou elevar a água (SILVER, 1976).

A introdução do cavalo na América é atribuída a Colombo em sua segunda viagem realizada em 1493 à ilha de São Domingos. Posteriormente o cavalo foi

introduzido em 1534 na capitania de São Vicente, por D. Ana Pimentel, esposa de Martim Affonso de Souza. A partir daí o cavalo foi introduzido no Brasil em épocas diferentes e, em 1808, D. João VI veio para o Brasil trazendo a sua coudelaria (CICCO, 2011).

Desde o desembarque dos primeiros cavalos no Brasil Colonial, os equinos ocuparam posição importante na economia brasileira. As rotas de transporte da tropa, ligando as diversas regiões, permitiram que um país com dimensões continentais fosse e permanecesse integrado (LIMA, 2007). Usado unicamente como meio de transporte durante muitos anos, os equídeos têm conquistado outras áreas de atuação, com forte tendência para lazer, esportes e até terapia. Uma de suas principais funções, contudo, continua sendo o trabalho diário nas atividades agropecuárias, onde aproximadamente cinco milhões de animais são utilizados, principalmente, para o manejo do gado bovino (BRASIL, 2011).

Atualmente, os cavalos possuem, também, grande importância econômica. Segundo o Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo, as atividades relacionadas ao cavalo movimentam cerca de R\$ 7,5 bilhões (LIMA, 2007). O rebanho envolve mais de 30 segmentos, distribuídos entre insumos, criação e destinação final, responsável pela geração de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (BRASIL, 2011).

Quando o assunto é exportação de cavalos vivos, os números são significativos: a expansão alcançou 524% entre 1997 e 2009, passando de US\$ 702,8 mil para US\$ 4,4 milhões. O Brasil é o oitavo maior exportador de carne equina. Bélgica, Holanda, Itália, Japão e França são os principais importadores da carne de cavalo brasileira, também consumida nos Estados Unidos. O Brasil exporta cerca de US\$ 30 milhões/ano de carne equídea (BRASIL, 2011).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abatecimento (MAPA), o Brasil possui o maior rebanho de equinos na América Latina e o terceiro mundial. Somados os muares e asininos são 8 milhões de cabeças. A maior população brasileira de equinos encontra-se na região Sudeste, logo em seguida aparecem as regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Norte. Destaque para o Nordeste, que além de equinos, concentra maior registro de asininos e muares (BRASIL, 2011). Do total de equídeos, 1.111.355 se encontram na região Centro-Oeste, dos quais 7.200 estão localizados no Distrito Federal (JÚNIOR, 2010). Em

2010, havia 1447 equídeos de tração cadastrados na Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do DF (SEAPA/DF), portanto, estes animais representam, aproximadamente, 20,1% da população total de equídeos do DF (DISTRITO FEDERAL, 2010).

A AIE é, hoje, um grande obstáculo para o desenvolvimento da equideocultura, por ser uma doença transmissível e incurável, acarretando prejuízos aos proprietários que necessitam do trabalho desses animais e aos criadores interessados na melhoria das raças, além de impedir o acesso ao mercado internacional (ALMEIDA et al., 2006).

No Brasil, a anemia infecciosa equina (AIE) foi descrita pela primeira vez em 1967 (SILVA et al., 2001) e, desde então, tem ocorrido casos em todo país. No DF, durante o ano de 2010, 30 equídeos foram eutanasiados, como medida de controle da doença (DISTRITO FEDERAL, 2010). Em um estudo realizado no Rio Grande do Sul, a AIE foi a doença infecciosa mais diagnosticada e a principal razão para sacrifício dos equídeos (PIEREZAN, 2009).

Segundo Almeida et al. (2006), as estatísticas oficiais apresentam um perfil da situação epidemiológica da AIE, porém não informam, com exatidão, a taxa de prevalência da enfermidade nos diferentes estados do país, uma vez que se referem, exclusivamente, aos exames laboratoriais realizados para o trânsito interestadual e/ou participação em eventos agropecuários controlados pelos serviços oficiais de defesa sanitária animal. A maior parte do efetivo testado pertence a rebanhos de alto valor zootécnico, nos quais a doença está controlada e, muitas vezes, o mesmo animal é testado mais de uma vez em um curto período. Não há um estudo de prevalência de AIE para que se possa estabelecer uma política sanitária adequada para o controle e futura erradicação da enfermidade.

Durante um longo período o mormo foi considerado erradicado no Brasil, posteriormente, verificou-se que os casos de mormo permaneceram, durante anos, restritos a populações de equídeos na região Nordeste (SANTOS et al., 2007). Porém, em Abril de 2010, foi notificado o primeiro caso de mormo no Distrito Federal. A doença nunca havia sido diagnosticada no DF e o equino positivo não possuía vínculo epidemiológico com a região de ocorrência da doença (DISTRITO FEDERAL, 2010).

Observando-se a importância econômica e social da equídeocultura no Brasil e dos prejuízos causado pelas doenças que acometem os equídeos, principalmente, aquelas onde é obrigatória a eutanásia dos animais positivos. Visto que, no DF, não foi realizado inquérito sorológico para AIE, além do surgimento do primeiro caso de mormo na região, é de extrema importância realizar um estudo da prevalência dessas enfermidades, verificando-se qual a distribuição, a epidemiologia e fatores de risco associados à elas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Mormo

2.1.1. Etiologia

O mormo é uma doença infecciosa causada por uma bactéria denominada *Burkholderia mallei*, um bacilo Gram-negativo, imóvel e intracelular facultativo. A maioria dos membros da família *Burkholderiaceae* reside no solo; entretanto, *B. mallei* é um patógeno que necessita de um hospedeiro para sobreviver. Os equinos são considerados o reservatório natural do agente, porém, os muares e asininos também são acometidos (WHITLOCK et al., 2007). Felinos, camelos e caprinos também são susceptíveis à infecção e o homem é hospedeiro acidental, sendo, geralmente, uma doença ocupacional (SCHELL et al., 2007).

A identificação do agente etiológico *B. mallei* ocorreu em 1882 pelo isolamento do organismo do fígado e baço de um cavalo. Desde sua descoberta, o patógeno foi classificado como *Loefflerella mallei*, *Pfeifferella mallei*, *Malleomyces mallei*, *Actinobacillus mallei*, *Corynebacterium mallei*, *Mycobacterium mallei*, *Pseudomonas mallei* and *Bacillus mallei*. A classificação no gênero atual, *Burkholderia*, ocorreu após a homologia do DNA–DNA, lipídios celulares, composição de ácidos graxos e características fenotípicas, como o gene 16S rRNA tipificado em 1992 (WHITLOCK et al., 2007).

Tem sido sugerido que a *B. mallei* surgiu de uma cepa da *B. pseudomallei*, agente causador da melioidose em humanos, após uma cepa ancestral infectar um hospedeiro animal e perder genes não necessários para sua sobrevivência no hospedeiro, transformando a bactéria em um patógeno obrigatório. Esta hipótese é baseada na similaridade genômica demonstrada por duas cepas de referência: tanto a *B. pseudomallei* K96243 e a *B. mallei* ATCC23344 possuem dois cromossomos circulares, aproximadamente todos os genes da *B. mallei* são observados na *B. pseudomallei* e *B. pseudomallei* possui 1.200 genes adicionais (LOSADA et al., 2010). Sprague et al. (2002) confirmou a similaridade de DNA em mais de 80% entre as duas espécies e afirmou que a diferenciação da *B. mallei* e

B. pseudomallei também é de interesse como ataque bioterrorista, já que a *B. mallei* possui um maior impacto em saúde pública do que a *B. pseudomallei*.

Quanto às propriedades tintoriais e morfologia é um bastonete, com 2-5 µm de comprimento por 0,5 µm de largura, não esporulado, possui uma pseudo-cápsula formada de lipopolissarídeos, fator esse determinante da virulência das cepas. No que concerne às propriedades bioquímicas, não produz indol, nem hemólise em ágar sangue de cavalo, nem pigmentos em meios de cultura, líquidos ou sólidos, e reduz nitrato. É pleomórfico, na dependência do tempo de cultura e do meio utilizado. Em culturas antigas apresenta-se sob a forma de filamentos ramificados. *B. mallei* é pouco resistente à dessecação, à luz, ao calor e aos desinfetantes químicos. Dificilmente sobrevive mais que um ou dois meses no ambiente (SANTOS et al., 2007).

2.1.2. Histórico e Epidemiologia

O mormo possui uma história antiga, que se inicia antes de Aristóteles no ano 350 a.C, quando a doença foi chamada de “Melis” (WHITLOCK et al., 2007). No início do século 20, o mormo estava disseminado na Europa, nos EUA e Canadá (NAUREEN et al., 2007). Devido ao impacto desastroso da doença em equinos, o mais importante meio de transporte daquele tempo, medidas de contenção contra o mormo foram implantadas a fim de reduzir a disseminação da doença (NEUBAUER et al., 2005). Testes em massa e campanhas de sacrifício tiveram sucesso na erradicação da doença nestes países. Alguns relatos recentes descrevem a ocorrência da doença no Brasil, Turquia, Emirados Árabes Unidos, Iraque, Irã, Índia e Paquistão (NAUREEN et al., 2007).

No Brasil, os registros datam no final do Século XIX quando ocorreram casos de mormo tanto em animais de serviço, quanto em humanos do Exército Brasileiro. No Brasil a doença foi descrita pela primeira vez em 1811, introduzida provavelmente por animais infectados importados da Europa, desencadeando-se verdadeiras epizootias em vários pontos do território nacional, vitimando muares, cavalos e humanos que adoeceram com sintomatologia de catarro e cancro nasal.

As perdas no plantel foram enormes e levaram, inclusive, à contratação de médicos veterinários franceses para ajudarem a controlar os sucessivos surtos. Após vários relatos da ocorrência da enfermidade em eqüídeos e humanos, com caracterização dos achados epidemiológicos, clínicos, microbiológicos e anatomo-histopatológicos, a doença parecia ter sido erradicada no Brasil; a última referência a um foco de mormo foi no município de Campos, estado do Rio de Janeiro (MOTA et al, 2000) e em 1968, no município de São Lourenço da Mata, estado de Pernambuco (SANTOS et al., 2007). O Boletim de Defesa Sanitária Animal, sobre as primeiras observações das doenças animais no Brasil, publicado em 1988, considerou que a doença estaria extinta no Brasil, uma vez que, desde a sua constatação em Pernambuco, nenhum novo caso fora comunicado em um prazo de 31 anos (BRASIL, 1988).

Posteriormente, em 1999, novos casos foram diagnosticados nos estados de Alagoas e Pernambuco. Nestes dois estados acredita-se que, muito provavelmente, nunca teria deixado de existir mormo, por haver elementos epidemiológicos consistentes quanto à ocorrência de uma afecção conhecida vulgarmente como “catarro do mormo” ou “catarro de burro”, acometendo preponderantemente muares, com curso e achados clínicos e anatomopatológicos semelhantes àqueles de mormo. A situação provocou alterações no trânsito interestadual e internacional. Em 03/02/2000, o DDA proibiu o trânsito interestadual de eqüídeos com origem nos estados de Alagoas e Pernambuco. Alguns países da América do Sul, incluindo a Argentina e o Chile fecharam as fronteiras para equinos provenientes do Brasil e em virtude destas barreiras sanitárias, foi cancelado o XX Clássico da Associação Latino Americana de Jockeys Clubs, previsto para o dia 18/03/2000, no Jockey Club de São Paulo causando grande prejuízo. Os animais brasileiros também não puderam participar de alguns torneios pré-olímpicos e diversas transações envolvendo a exportação destes animais foram suspensas. Em 1/3/2000, a União Européia proibiu a importação de eqüídeos provenientes dos estados de Pernambuco e Alagoas (KERBER, 2000). Além desses estados, Ceará, Sergipe, Piauí, Maranhão, Paraíba, Amazonas, Pará, Rio Grande do Norte e Paraíba, também, tiveram casos diagnosticados, segundo o Departamento de Saúde Animal da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

No relatório de “Estratégia de combate ao mormo” da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento foi descrito que os casos diagnosticados de mormo em Pernambuco e Alagoas não eram ocorrências isoladas nas usinas afetadas e desde algum tempo que os técnicos da região suspeitavam da doença, com base em manifestações clínicas, principalmente em muares de trabalho. A demora em obter um diagnóstico conclusivo deveu-se ao fato de ser difícil a caracterização do agente em questão e, também, por a doença se julgar erradicada. As evidências clínicas não sugeriam que a doença tivesse origem fora da região, uma vez que os sinais de doença eram aparentes apenas algum tempo após o ingresso na região da zona da mata dos dois estados, onde os muares eram utilizados na produção de cana-de-açúcar em plantios de encosta. As condições ecológicas (alta umidade) e as condições de criação e exploração destes animais eram favoráveis à manutenção do agente infeccioso, uma vez que os muares eram mantidos em trabalho intensivo durante aproximadamente 10 anos, durante os quais eram mantidos em grupos de equídeos com contato permanente entre si (BRASIL, 2000).

Após a Segunda Guerra Mundial, a importância do equino como transporte animal rapidamente diminuiu e as pesquisas veterinárias sobre *B. mallei* cessaram. Poucos esforços foram realizados para melhorar a qualidade do diagnóstico do mormo e a *B. mallei*, junto com outros agentes re-emergentes, perdeu sua importância junto aos sistemas políticos (NEUBAUER et al., 2005).

Segundo Neubauer et al. (2005), na década de 1990, a ausência de um teste específico para diagnóstico do mormo se tornou evidente, visto que muitos animais apresentavam reação falso-positiva ao teste de fixação de complemento. Isto se reflete no aumento do número de suspeitas de surtos de mormo na Ásia e América do Sul. Este é um sinal de alarme e é preciso reconsiderar a preparação dos países em monitorar estes eventos e avaliar as medidas apropriadas. Somente recentemente novos estudos estão sendo realizados por causa do potencial do uso da *B. mallei* em bioterrorismo.

Segundo Rowland et al. (2010), pesquisas limitadas têm sido realizadas para estudar a infecção por *B. mallei*, possivelmente, devido aos poucos casos de infecção natural observados no Ocidente. Segundo Naureen et al. (2007) diferentes grupos de pesquisadores ainda estão investigando a patogênese,

novos procedimentos diagnósticos, tratamentos e o desenvolvimento de vacinas eficazes contra o mormo.

No Brasil, em julho de 2004, a doença foi introduzida em Santa Catarina com cavalos importados da Paraíba (SANTOS et al, 2007), o foco foi encerrado e o estado retomou o *status* de livre da doença. Em setembro de 2008, ocorreu um foco de mormo no estado de São Paulo no qual o animal apresentou sinais clínicos da doença, resultado positivo na FC e foi eutanasiado, foram realizados 26.400 exames no estado, dois eqüinos foram submetidos ao teste da maleína após resultado positivo na FC e não apresentaram reação; em janeiro de 2009 o caso foi encerrado (WAHID, 2008). Elschner et al. (2009) relataram um caso de mormo em equino importado do Brasil em 2006, o animal apresentou sinais clínicos de doença respiratória, febre, secreção nasal purulenta, crostas na mucosa nasal e lesões purulentas nos membros e foi positivo nos testes de FC, maleína e PCR, também foram observadas lesões macroscópicas nos pulmões, fígado e baço. Em abril de 2010, no Distrito Federal, uma égua com sinais clínicos sugestivos de mormo apresentou resultado positivo na FC, no teste da maleína e no isolamento. O animal foi eutanasiado, foram realizados 8900 exames de fixação de complemento e, como nenhum novo caso foi identificado, o foco foi encerrado no mês de abril de 2011 (WAHID, 2010).

2.1.3. Patogenia e Transmissão

A principal via de infecção é a digestiva, através de alimentos e água contaminados. Outras vias, tais como a respiratória e a cutânea, são menos frequentemente envolvidas. As bactérias atravessam a mucosa da faringe e do intestino, alcançam a via linfática e, em seguida, a corrente sanguínea, alojando-se nos capilares linfáticos dos pulmões, onde formam focos inflamatórios. Além dos pulmões, a pele, a mucosa nasal e, menos frequentemente, outros órgãos podem estar comprometidos. A imunidade é predominantemente mediada por células (SANTOS et al., 2007).

Segundo Neubauer al. (2005), pode-se considerar que os polissacarídeos da cápsula (CPS) da *B. mallei* limitam a opsonização e a fagocitose da bactéria e, então, ocorre a disseminação da bactéria pelo sangue, como no caso da *B. pseudomallei*. Devido a isso, não é surpresa que anticorpos anti-CPS protejam cobaias que se encontram infectadas com *B. pseudomallei*. Estes autores também acreditam que anticorpos contra LPS e CPS são responsáveis pelo comportamento intra-fagocítico da bactéria e que a doença só se manifesta em pacientes imunodeprimidos. Esta afirmativa também é verdadeira para a *B. mallei* em equinos com infecção subclínica ou portadores assintomáticos, os quais são os únicos reservatórios de *B. mallei* na natureza.

A doença se manifesta, tipicamente, na forma aguda ou crônica, sendo que a forma crônica, geralmente, ocorre em equinos e a forma aguda em muares e asininos. Equinos são os hospedeiros primários da doença e são responsáveis pela transmissão da infecção para animais sadios e humanos. O período de incubação varia de dias a semanas e alguns animais podem morrer em uma semana de início dos sinais clínicos. A *B. mallei* apresenta tropismo pelas vias do trato respiratório superior e a descarga nasal é uma importante fonte de contaminação em comedouros e bebedouros comunitários, onde a alimentação e a água são compartilhadas com animais infectados. O conteúdo proveniente da ulceração dos nódulos é a fonte de infecção para animais e humanos (GALYOV et al., 2010).

Mota et al. (2010) afirmam que o tipo de manejo utilizado nas propriedades, com confinamento dos animais em estábulos para alimentação, provavelmente está associado à disseminação do agente no ambiente, facilitando a infecção entre os animais. A alimentação pobre, a movimentação de animais e o excesso de trabalho podem predispor à infecção. Mota et al. (2000) observaram não haver relação entre a estação do ano e o aumento do número de casos nas propriedades onde a doença assume caráter crônico, ocorrendo mortes durante todo o ano.

Segundo Mota et al. (2000), os animais assintomáticos, na fase aguda da doença ou em estágios de convalescença, desempenham importante papel na transmissão direta e indireta do agente, pois apresentam a bactéria nas secreções cutâneas e respiratórias.

2.1.4. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos mais frequentes incluem febre, tosse e corrimento nasal. Na forma aguda da doença a morte por septicemia ocorre em poucos dias. A fase crônica da doença é caracterizada por três formas de manifestação clínica: a nasal, a pulmonar e a cutânea, porém estas não são distintas, podendo o mesmo animal apresentar todas as formas simultaneamente (MOTA, 2006; GALYOV et al., 2010).

Na forma nasal, observa-se lesões nodulares na mucosa nasal que evoluem para úlceras que após a cicatrização formam lesões em forma de estrelas, os linfonodos submandibulares podem estar reativos. A forma pulmonar é caracterizada por pneumonia crônica com tosse, epistaxe, respiração laboriosa e dispnéia; no início há uma secreção nasal serosa que evolui para purulenta, com estrias de sangue. Outros sinais clínicos menos específicos incluem febre, apatia e caquexia. Na forma cutânea da doença observam-se nódulos endurecidos ao longo do trajeto dos vasos linfáticos, principalmente na região abdominal, costado e na face medial dos membros posteriores. Estes nódulos, com a evolução da doença, tornam-se flácidos, fistulam drenando conteúdo purulento e evoluem para úlceras. Estas lesões nodulares na pele ocorrem a distâncias aproximadamente iguais, resultando em arranjos em forma de colar de pérolas ou rosário (MOTA, 2006; GALYOV et al., 2010).

2.1.5. Diagnóstico

O diagnóstico do mormo consiste na associação dos aspectos clínico-epidemiológicos, anatomo-histopatológicos, isolamento bacteriano, inoculação em animais de laboratório, reação imunoalérgica (maleinização) e testes sorológicos (MOTA, 2006).

O diagnóstico clínico e bacteriológico do mormo é difícil nos estágios iniciais da doença e nos casos subclínicos. Aproximadamente 90% das infecções ocorrem de forma assintomática ou latente. Geralmente, a maleína e os testes

sorológicos, incluindo fixação de complemento (FC), teste da hemaglutinação indireta (IHAT), imunoeletroforese (CIET), teste indireto do anticorpo fluorescente (IFAT) e ELISA, são utilizados no diagnóstico do mormo. Entretanto, alguns testes sorológicos são complexos, são dependentes de uma reação biológica, enquanto outros dependem de pessoal treinado e equipamentos caros, o que torna inviável sua aplicação a campo (NAUREEN et al, 2007). Todos os testes sorológicos podem apresentar resultados imprecisos por até seis semanas após a realização do teste da maleína (MOTA, 2006).

Segundo Bridget et al. (2007), todos os testes sorológicos para mormo em equídeos apresentam reação cruzada com *B. pseudomallei*. Portanto, onde a melioidose é endêmica, os testes sorológicos podem resultar em falso-positivo.

Oficialmente, para fins de diagnóstico e de controle do mormo no Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento recomenda somente a realização dos testes de fixação de complemento (FC) e maleína (BRASIL, 2004b).

Segundo o MAPA (2004b), os animais devem ser submetidos ao teste de FC de acordo com as restrições de trânsito, sendo a coleta do sangue e a requisição do exame realizados por médico veterinário cadastrado. Animais reagentes ao teste que apresentem sinais clínicos da doença devem ser considerados positivos; animais reagentes à FC sem sinais clínicos devem ser submetidos ao teste da maleína para conclusão do diagnóstico, sendo necessários dois testes com intervalo de 45-60 dias para considerar o animal negativo. Equídeos não reagentes à FC e que apresentem sinais clínicos da doença podem ser submetidos ao teste da maleína. Animais de propriedade recorrente serão considerados positivos apenas com o teste de FC.

2.1.5.1. Fixação de Complemento

O teste de FC apresenta alta sensibilidade e boa especificidade e deve ser realizado em laboratório oficial ou credenciado pelo MAPA. Baseia-se na detecção de anticorpos específicos contra a *B. mallei* que podem ser observados

uma semana após a infecção, contudo alguns estudos demonstram que o melhor período para a realização do exame situa-se entre 4-12 semanas após a infecção (MOTA, 2006).

Esta técnica detecta quase exclusivamente anticorpos IgG1, que são específicos da infecção. Um anti-soro teste é titulado em diluição seriada e uma quantidade fixa de antígeno é adicionada a cada poço. Se o anticorpo estiver presente no anti-soro, formam-se complexos imunes. O complemento é então adicionado à solução. Nesta etapa, antígeno, soro teste e complemento estão reagindo juntos. Se os complexos estiverem presentes, o complemento é ativado, sendo fixado e consumido. Na etapa final da reação, as células indicadoras (eritrócitos), juntamente com uma quantidade subaglutinante de anticorpo (anticorpo antieritrócito) são adicionados à mistura. Se houver qualquer complemento remanescente, estas células serão lisadas; se o complemento tiver sido consumido na etapa dois pelos complexos imunes, as células não serão lisadas devido à quantidade insuficiente de complemento presente na solução. A quantidade de complemento utilizada é apenas suficiente para lisar as células indicadoras se absolutamente nada do complemento for consumido (BRASIL, 2004a).

Os controles adequados são de fundamental importância neste método porque algumas preparações de anticorpos consomem complemento sem adição de antígeno, por exemplo, soros que já contem complexos imunes. Alguns antígenos também podem apresentar atividade anticomplementar. Portanto, os controles devem incluir somente antígeno para verificar que nenhum destes esteja, por si só, fixando complemento. O resultado da fixação de complemento é baseado no percentual de hemólise dos eritrócitos sensibilizados (BRASIL, 2004a), sendo o resultado positivo, negativo, anticomplementar e inconclusivo.

O soro anticomplementar contém algumas substâncias, tais como outras imunoglobulinas que não aquela induzida pela bactéria *Burkholderia mallei*, outras proteínas ou até mesmo bactérias que interferem no teste, consumindo o complemento livre, uma vez que este deveria se ligar ao imunocomplexo hemácia-hemolisina, resultando numa hemólise (resultado negativo). Além destes fatores, pode-se mencionar também alimentação rica em carboidrato, estresse do animal ou mesmo algumas medicações e vacinas. Quando o animal resulta

anticomplementar, deve-se coletar nova amostra com o intervalo de até 30 dias da primeira coleta. Deve-se evitar o uso de medicamentos e vacinas. Neste caso, o animal deve permanecer isolado (CHAVES, 2009).

Uma etapa da técnica que pode levar a uma interpretação incorreta dos resultados é a inativação do soro. Para tanto, deve-se inativar o soro dos equinos a uma temperatura de 58°C, exceto as éguas prenhes. O soro destas e dos muares e asininos deve ser inativado a 62,5°C. Quando a inativação não é corretamente conduzida, normalmente observa-se uma reação anticomplementar. Para tanto, o médico veterinário requisitante deve informar no campo correspondente da resenha a espécie e, quando se tratar de égua, informar se está ou não prenhe (CHAVES, 2009).

O resultado inconclusivo apresenta uma reação muito fraca na diluição 1:5 que não permitiu uma segurança ao laboratório quanto à sua positividade. Neste caso também o exame deve ser repetido com uma nova amostra num período de até 30 dias (CHAVES, 2009).

Neubauer et al. (2005) relatam que a indicação da FC para o controle do mormo em exigências internacionais data do começo do último século e foi desenvolvido como um teste para programas de erradicação para populações animais com alta prevalência. A FC foi o teste diagnóstico escolhido por causa da sua capacidade de detectar animais assintomáticos e com infecção crônica, pois estes animais são os responsáveis pela disseminação da doença e pelos novos surtos. Como a FC é baseada em uma preparação de células de *B. mallei*, este teste possui uma excelente sensibilidade, de pelo menos 97%. Somente alguns soros de animais idosos, gestantes ou em situação de estresse têm reação falso-negativa. Em programas de erradicação a especificidade da FC foi adequada, apesar de um número considerável de soros ter apresentado resultado falso-positivo.

Bridget et al. (2007) afirmam que a FC possui 90% a 95% de sensibilidade podendo detectar soro positivo em uma semana de infecção. Em casos crônicos, o soro é tipicamente positivo por um longo período. Uma limitação da FC é que um grande percentual de muares, asininos e éguas gestantes são anticomplementares e o soro não pode ser testado de forma eficaz.

A FC é baseada no uso de preparado de células e isto também induz a reações falso-positivas devido às reações cruzadas de antígenos gene-específicos. O primeiro pesquisador a tentar utilizar um novo antígeno específico foi Sakamoto (1929), quando ele decidiu utilizar um extrato de culturas de *B. mallei* para reduzir a taxa dos positivos questionáveis na FC. Ele percebeu que 1% da população equina apresentava reações falso-positivas. Utilizando um carboidrato solúvel do antígeno no teste de precipitação, ele acreditou que aumentaria a sensibilidade e especificidade quando comparado com a FC e patologia. Pode-se assumir que esta substância era uma mistura de polissacarídeos da cápsula (CPS) e, principalmente, lipopolissacarídeos (LPS). Entretanto, estes resultados promissores foram esquecidos na década seguinte (NEUBAUER et al., 2005).

Posteriormente, em uma análise incluindo dezenas de milhares de equinos, as reações inespecíficas no diagnóstico de mormo por FC e teste da maleína foram de aproximadamente 1%. Paralelamente, outros pesquisadores comprovaram a estreita relação entre a *B. pseudomallei* e a *B. mallei*. A maleína foi utilizada em um teste ELISA utilizando um anticorpo LPS-específica anti-*B. mallei* como um indicador de anticorpo. Ficou claro que esta técnica pode detectar positivos, mas não os soros de equinos que não foram identificados como positivos na fixação de complemento. A qualidade deste teste, entretanto, depende da especificidade do anticorpo utilizado (NEUBAUER et al., 2005).

Neubauer et al. (2005) afirmam que, atualmente, uma nova técnica para diagnóstico do mormo é necessária a fim de se reduzir os resultados falso-positivos, o que é frequentemente observado na FC, e principalmente em casos de baixa prevalência da doença, devem ser utilizados testes específicos para se evitar restrições desnecessárias ao trânsito de equídeos.

Sprague et al. (2009) compararam o teste de FC e cELISA e concluíram que, apesar do teste de FC ser antigo e laborioso, esta técnica ainda pode ser utilizada no diagnóstico do mormo em populações com baixa prevalência. Entretanto, para se evitar resultados falso-positivos e prejuízos financeiros aos proprietários, os autores sugerem a combinação das duas técnicas, quando possível.

2.1.5.2 Teste da Maleína (Maleinização)

O teste da maleína foi o primeiro teste diagnóstico para o mormo e tem sido o melhor teste para diagnóstico a campo e programas de erradicação desde 1890. Militares veterinários russos, Gelman e Kalning, desenvolveram o teste em 1891 e os Estados Unidos e o Canadá iniciaram o uso deste teste diagnóstico em 1905. O teste intradermopalpebral é o teste de preferência. O monitoramento subsequente do animal e a interpretação de resultados positivos dependem do método de administração e deve ser realizado pela autoridade sanitária que realizou o teste. Nas doenças clínicas avançadas em equinos e infecção aguda em muares e asininos, entretanto, o teste da maleína pode apresentar resultados inconclusivos. Nestes casos, outros métodos diagnósticos são necessários (BRIDGET et al., 2007).

O teste da maleína possui limitações em termos de sensibilidade, particularmente em casos clínicos e avançados da doença. Reações cruzadas também têm sido descritas entre *B. mallei* e *Streptococcus equi*, resultando em reações falso positivas. Entretanto, a eficiência e a potência do teste estão amplamente associadas com o peso molecular das frações da proteína e com a virulência das cepas de *B. mallei* utilizadas na preparação da maleína. A proteína purificada derivada (PPD) maleína é uma mistura de ambas as frações de proteína molecular de peso alto e baixo; as proteínas de peso molecular baixo são responsáveis pelas reações inespecíficas (BRIDGET et al., 2007).

No Brasil, a inoculação da maleína com fins de diagnóstico é realizada a campo por médicos veterinários oficiais. A maleína é inoculada por via intradérmica (0,1 ml) na pálpebra inferior, realizando-se a leitura 48 horas após. Uma reação positiva revela edema palpebral com presença ou não de secreção purulenta (BRASIL, 2004b).

A inoculação da maleína pode estimular uma resposta humoral e subsequente reação sorológica a FC, particularmente, quando administrada por via subcutânea. Apesar de ser transitória, esta soroconversão pode se tornar permanente após a realização de testes da maleína repetidamente, o que é uma

consideração importante para equídeos que serão exportados para regiões onde é necessário realizar a FC (HAGEBOCK et al., 1993).

2.1.5.3 cELISA (Ensaio Imunoenzimático Competitivo)

Katz et al (2000) desenvolveram um método de diagnóstico da *B. mallei* utilizando o teste de ELISA competitivo (cELISA), no qual observaram especificidade de 98.9% e concordância com o teste de fixação de complemento em 70%. Estes autores concluíram que a cELISA pode ser uma técnica de reprodução facilitada, objetiva e aplicável para o diagnóstico sorológico do mormo em animais submetidos ao trânsito internacional e em programas de erradicação da doença, possível de substituir a técnica de FC. Os pesquisadores ressaltaram que o uso de cELISA descarta os problemas associados a soros anticomplementares, além de ser uma técnica automatizada que permite resultado mais rápido e objetivo e reduz as falhas relacionadas a diluições.

Sprague et al. (2009) compararam o teste de FC e cELISA e observaram uma maior sensibilidade e especificidade do cELISA, além de oferecer a possibilidade de automatização, pode ser utilizada em soros que não fixam o complemento e pode ser utilizado em diferentes espécies de hospedeiros.

2.1.5.4 Teste do Rosa Bengala em Placa de Aglutinação (RBT)

As falhas no teste da maleína levaram os pesquisadores russos a desenvolverem um novo teste para diagnóstico do mormo, o teste do rosa bengala em placa de aglutinação (RBT), o qual ainda não foi validado. Até o momento, a sensibilidade, especificidade e acurácia deste teste não foram avaliadas em condições de campo (NAUREEN et al., 2007). O RBT pode ser utilizado nos casos de anergia ou casos avançados de mormo quando o teste da maleína apresentar resultados inconclusivos. O teste é de fácil utilização, não necessita de equipamentos especiais e não necessita de mão-de-obra especializada. O resultado é obtido em 2 minutos e o teste pode ser aplicado em

condições de campo. Em vista da sua simplicidade, rapidez e fácil execução, o RBT tem potencial para ser utilizado como um teste complementar para o diagnóstico do mormo em condições de campo. Entretanto, como o antígeno não-purificado foi utilizado no presente estudo e em estudos prévios, há necessidade de validar o teste utilizando antígenos purificados definidos (capsular ou lipopolissacarídeos) para minimizar a chance de reações falso-positivas, como observado na FC (NAUREEN et al., 2007).

2.1.5.5 Cultura Bacteriana

Para o cultivo da bactéria, nos casos de evidência clínica da doença, o material biológico de eleição para o diagnóstico é o conteúdo purulento de nódulos cutâneos fechados obtidos por punção aspirativa e *swabs* da mucosa nasal enviados ao laboratório sob refrigeração. Ressalta-se que a cultura do material obtido dos *swabs* não deve ser realizada diretamente em meios de cultura sólidos, pois a influência de bactérias oportunistas da cavidade nasal dificulta o isolamento da *B. mallei*, levando a resultados falso-negativos. O material deve ser semeado em ágar sangue ovino desfibrinado e incubado a 37°C durante 48-72 horas. Posteriormente, realiza-se a identificação bacteriana baseada nas características de crescimento, coloração de Gram e provas bioquímicas (MOTA, 2006).

O microorganismo comporta-se como anaeróbio facultativo em presença de nitrato. Seu crescimento é lento nos meios de cultura comuns e é favorecido pela adição de glicerol. No ágar-glicerol observa-se uma colônia confluenta, de coloração creme, lisa, úmida e viscosa, que, com o tempo, torna-se marrom e firme; no caldo-glicerol forma uma película viscosa. Em ágar-sangue as colônias são superficiais, redondas, convexas, opacas, tendendo à viscosidade. Tornam-se amarelo-esverdeadas ou marrons, com o passar do tempo (SANTOS et al., 2007).

Santos et al. (2007) relataram que meios suplementados com corantes bacteriostáticos, como o cristal-violeta, e com antimicrobianos, tais como

polimixina E, bacitracina e actidione, têm sido recomendados para o isolamento de *B. mallei*, a partir de espécimes que apresentem excessiva contaminação.

2.1.5.6 Prova de Strauss

A prova de Strauss é realizada pela inoculação da secreção nasal ou o conteúdo dos abscessos subcutâneos na cavidade peritoneal de cobaias, observando-os por até duas semanas após a inoculação. As cobaias poderão apresentar aumento do volume testicular e sinais de septicemia 24 a 48 horas após a aplicação ou abscessos no ponto de inoculação aproximadamente três a cinco dias após. À necropsia observam-se lesões abscedativas em diferentes órgãos de onde coleta-se material para isolamento e identificação bacteriana (MOTA, 2006; SILVA et al., 2005). Silva et al. (2005) afirma que a prova de Strauss é um teste bastante sensível e que pode ser empregado no diagnóstico do mormo.

2.1.5.7 Teste da Hemaglutinação Indireta (IHAT)

Naureen et al. (2007) avaliaram o uso do IHAT como teste diagnóstico do mormo e observaram, assim como pesquisadores americanos, uma alta sensibilidade do teste de aglutinação em relação à fixação de complemento. Os autores sugerem o uso simultâneo do IHAT a fim de ampliar a acurácia da FC, já que este teste pode falhar na detecção de muitos casos confirmados, principalmente, devido à atividade anticomplementar do soro de asininos e muares.

2.1.5.8 Reação de Cadeia em Polimerase (PCR)

Atualmente, a PCR é uma alternativa para o diagnóstico do mormo. Diferentes estudos têm sido realizados utilizando esta técnica para identificação de microorganismos do gênero *Burkholderia* spp. Segundo Suppiah et al. (2010), a detecção de patógenos por métodos moleculares vem sendo usual devido à rápida identificação do agente e conclusão do diagnóstico, sendo importante, principalmente, em casos de doença clínica. Estes autores desenvolveram uma técnica de PCR específica para identificação de *Burkholderia* spp e diferenciação das espécies *B. pseudomallei* e *B. cepacia* e concluíram que a técnica foi eficiente na detecção dos patógenos.

Lee et al. (2005) utilizaram a PCR para diferenciar a *B. mallei* da *B. pseudomallei*, pois em países onde a *B. pseudomallei* é endêmica a diferenciação das duas espécies de *Burkholderia* deve ser usual, além disso, a identificação é importante pois as duas bactérias são consideradas como agentes potenciais para o bioterrorismo.

Silva et al. (2009) realizaram a caracterização fenotípica e molecular de amostras de *B. mallei* isoladas na Região Nordeste utilizando as técnicas de ribotipagem-PCR e RAPD-PCR e concluíram que as pequenas variações bioquímicas não estão associadas aos diferentes perfis moleculares e que essas diferenças demonstram uma heterogeneidade que está associada à procedência das amostras, indicando que a infecção nos animais ocorre por clones diferentes das amostras analisadas.

2.1.5.9 Histopatologia

Silva et al. (2005) avaliaram as lesões anátomo-histopatológicas em cobaias inoculadas com uma amostra de campo de *B. mallei* isolada do conteúdo purulento de nódulos cutâneos fechados de equídeos com mormo. As lesões macroscópicas observadas com maior frequência foram congestão e hemorragia

pulmonar, abscessos hepáticos, aderência da túnica vaginal, túnica vaginal hiperêmica, congesta, com presença de secreção purulenta e testículos hemorrágicos. O exame histológico revelou congestão, vacuolização difusa e necrose dos hepatócitos; congestão cortical e medular e vacuolização das células epiteliais; edema, congestão e hemorragias nas túnicas vaginal e albugínea, além de formação de piogranulomas; processo degenerativo tubular com descamação celular, presença de macrófagos e debris celulares, além de células sinciciais na luz dos túbulos do testículo e epidídimo.

2.1.6. Controle e Profilaxia

Atualmente, não há nenhuma vacina animal ou humana contra a infecção da *B. mallei* e o tratamento dos equídeos não é recomendado (MOTA, 2006).

Segundo Bridget et al (2007), não há nenhuma evidência que a infecção prévia ou a vacinação provoque imunidade contra o mormo. Várias tentativas de vacinar equinos e animais de laboratório contra mormo não foram bem sucedidas entre 1895 e 1928. Para a maioria dos equinos infectados cronicamente a vacinação experimental não alterou o curso da doença.

Como não há tratamento e vacina contra o mormo, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) recomenda, como medidas de profilaxia e controle, a interdição de propriedades com foco confirmado da doença para saneamento e a eutanásia dos animais positivos por profissional do serviço de Defesa Sanitária. O controle de trânsito interestadual e participação em eventos hípicas, de equídeos provenientes de estados onde há comprovação da existência da doença, deve ser feito acompanhado de exame negativo para mormo, obedecendo-se o prazo de validade e que estes não apresentem sinais clínicos de mormo (BRASIL, 2004b).

Mota et al. (2000) sugerem a adoção de outras medidas a fim de se evitar a disseminação do agente nas criações como isolamento dos animais com sinais clínicos sugestivos da doença, até a confirmação laboratorial; aquisição de animais de propriedades comprovadamente livres da doença; realização de

quarentena e exames laboratoriais de animais adquiridos de outras criações; desinfecção das instalações; evitar baias e cochos coletivos; fornecer alimentação e mineralização adequadas.

Sabe-se que a *B. mallei* é susceptível a vários desinfetantes e, para a desinfecção das instalações, pode-se utilizar hipoclorito de sódio a 1%; hipoclorito de cálcio a 5%; etanol a 70%; glutaraldeído 2%; iodo; cloreto de benzalcônio; permanganato de potássio a 1% e solução alcalina 3%. Desinfetantes a base de cloreto de fenol e mercúrio não são recomendados. A *B. mallei* pode permanecer viável em água por pelo menos um mês e pode ser destruída em temperatura de 55°C por 10 minutos e por radiação ultravioleta (BRIDGET et al., 2007).

No Brasil, para o controle do mormo nas usinas de cana-de-açúcar verificou-se algumas dificuldades, visto que os animais eram criados em confinamento, sob trabalho intensivo, além das condições de alta umidade que favoreciam a manutenção do agente no ambiente. No DF, as condições de criação dos animais difere da observada na região Nordeste. Os equídeos de tração são submetidos ao trabalho intenso, porém, muitos tem um período de descanso após o trabalho; e os animais não permanecem em contato próximo um dos outros, mesmo quando são abrigados em currais comunitários, em virtude dos proprietários construírem baias individuais para seus animais a fim de evitar o furto dos mesmos.

2.2. Anemia Infecciosa Equina

2.2.1. Etiologia

A anemia infecciosa equina (AIE), também conhecida como “Febre dos Pântanos”, é causada por um retrovírus, membro da família *Retroviridae*, subfamília *Lentivirinae*. Esse é um vírus RNA, envelopado, que contém um núcleo cônico e denso. As glicoproteínas “gp 90” e “gp 45”, do envelope lipídico externo do vírus, são responsáveis pelas alterações antigênicas apresentadas pelo vírus

nas células dos hospedeiros, que provocam episódios de febre recorrente característicos. Essas glicoproteínas também são necessárias para a penetração do vírus nas células. O vírus apresenta ainda proteínas do núcleo (“p26”), que são detectadas pelos testes diagnósticos de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e ELISA competitivo (cELISA) (RADOSTITS, 2000).

O vírus apresenta grande estabilidade quando submetido a baixas temperaturas, podendo ser estocado a -20 °C por diversos anos sem perder sua infectividade (NAKAJIMA, 1976 citado por FIORILLO, 2011). É inativado, porém, quando submetido a 56°C por 60 minutos e destruído quando exposto à luz solar durante 30 a 60 minutos (CARVALHO, 1998 citado por FIORILLO, 2011).

2.2.2. Histórico e Epidemiologia

Os estudos iniciais desta doença foram realizados na França em 1843 e sua etiologia viral foi determinada em 1904, por Vallée e Carré (FLORES, 2007). No Brasil, Manente admitiu, em 1952, a existência da doença em São Paulo. Somente em 1967 ela foi oficialmente reconhecida através de lesões anatomo-patológicas de animal necropsiado no Jockey Clube do Rio de Janeiro. Em 1976, um surto de grandes proporções ocorreu na região do pantanal mato-grossense (SILVA et al., 2001).

O vírus da AIE (VAIE) tem distribuição mundial especialmente em regiões úmidas e montanhosas de clima tropical e subtropical, onde existe grande quantidade de vetores (KARAM et al., 2010). Nas regiões onde ocorre a enfermidade há um grande obstáculo para o desenvolvimento da equideocultura, por a doença ser transmissível e incurável, acarretando prejuízos aos proprietários que necessitam do trabalho desses animais e aos criadores interessados na melhoria das raças, além de impedir o acesso ao mercado internacional (ALMEIDA et al., 2006).

A transmissão da doença ocorre pela transferência de sangue e seus derivados, de equídeos infectados para animais sadios, sendo que os principais vetores do vírus são os insetos hematófagos como moscas, mutucas e mosquitos.

Estes insetos são responsáveis pela transmissão mecânica do vírus, ou seja, não há multiplicação do agente no vetor (RADOSTITS, 2000). As espécies que parecem estar envolvidas são os tabanídeos (*Tabanus* spp. e *Hybomitra* spp., *Chrysops flavidus*), a mosca de estábulo (*Stomoxys* spp.), os borrachudos (*Simulium vittatum*), os mosquitos (*Psorophora columbiae*, *Aedes vexans* e *Anopheles* spp.) e possivelmente os *Culicoides* spp. O vírus está presente em todas as secreções e excreções do animal infectado, incluindo colostro, leite, saliva, urina e sêmen (KARAM et al., 2010). A transmissão pode ocorrer, também, de forma iatrogênica, pela transfusão de sangue contaminado, pelo uso de agulhas, instrumentos cirúrgicos e utensílios contaminados, como freios e esporas (COETZER et al., 1994). Outras formas de menor importância epidemiológica incluem as transmissões transplacentária, através do colostro e do sêmen (NOCITI et al., 2008).

A transmissão é mais frequente em áreas de grande infestação de insetos e com grande concentração de animais. A picada dos insetos estimula um reflexo defensivo dos animais, o que frequentemente resulta na interrupção do repasto sanguíneo. Esses insetos procuram reiniciar o repasto com maior brevidade, frequentemente o fazendo em animais que se encontram nas proximidades e, com isso, transmitindo o agente. A transmissão do VAIE por insetos depende da população e hábitos dos insetos, da densidade dos animais, do número de picadas no animal e em animais das proximidades, da quantidade de sangue transferida entre animais e do nível de vírus no sangue do animal infectado que serve de fonte de infecção (FLORES, 2007).

Segundo Silva et al. (2001), embora seja possível eliminar-se completamente a transmissão do VAIE pela intervenção do homem, o mesmo não ocorre com relação ao risco de transmissão, no campo, por insetos hematófagos. O risco de transmissão entre animais positivos para AIE e animais sadios aumenta com o aumento da prevalência da doença na propriedade.

Alguns estudos realizados no Brasil revelam a situação da doença em diferentes estados. Nociti et al. (2008) verificaram a ocorrência da AIE no estado do Mato Grosso calculando o percentual de animais positivos a partir do total examinado e observaram: no ano de 2004 - 6,83%; 2005 - 4,87%; 2006 - 4,71%; e 2007 - 3,87% de soros reagentes para a doença. Karam et al. (2010)

observaram um aumento significativo no número de focos no Rio de Janeiro entre os anos 2002 a 2008 e atribuíram este aumento à intensificação das medidas de defesa sanitária realizadas em todo o estado. Heinemann et al. (2002) relataram uma prevalência de 17,71% de AIE no município de Uruará, estado do Pará, e afirmaram que a região amazônica é ecologicamente propícia ao desenvolvimento de insetos hematófagos, os quais constituem fator de grande importância na determinação do grau de endemicidade da doença. Almeida et al. (2006) estimaram a prevalência da AIE em animais de serviço e observaram que a enfermidade é endêmica em MG, apresentando duas áreas epidemiologicamente distintas, sendo uma de prevalência alta ao norte e, outra, ao sul da primeira, de prevalência significativamente mais baixa. Fiorillo (2011) estimou a prevalência da AIE em haras de MG e verificou uma prevalência muito baixa, quando comparada à dos animais de serviço, entretanto, também verificou prevalência maior na região norte em relação ao centro e sul do estado. Em um estudo realizado pela Embrapa Pantanal (SILVA et al., 2001), foi observada prevalência de 18,2% em animais de serviço.

No DF, no período de 2004 a 2010, foram realizados 70.205 exames para AIE em laboratórios credenciados e 329 animais foram positivos para a doença. De acordo com a tabela 1, observa-se que nos últimos três anos não houve grande variação da quantidade de equídeos positivos para AIE, provavelmente, devido a intensificação das medidas sanitárias de controle da doença, visto que o número de exames realizados se manteve constante. Entretanto, estes exames foram realizados devido às exigências da apresentação de exame laboratorial negativo para trânsito, sendo a maioria dos exames referentes a animais de alto valor zootécnico, que participam de eventos agropecuários com frequência, podendo o mesmo animal ter sido testado mais de uma vez no ano correspondente.

Tabela 1: Exames de AIE realizados no DF e número de animais positivos de 2004 a 2010.

Ano	Total de Exames	Focos	Animais Positivos	Animais Positivos (%)
2004	8.957	19	51	0,57
2005	11.910	123	137	0,91
2006	7.860	13	17	0,22
2007	10.108	40	41	0,41
2008	10.056	34	34	0,33
2009	10.522	20	20	0,19
2010	10.792	30	30	0,27

Segundo Almeida et al. (2006), as estatísticas oficiais apresentam um perfil da situação epidemiológica da AIE, porém não informam, com exatidão, a taxa de prevalência da enfermidade nos diferentes estados do país, uma vez que se referem, exclusivamente, aos exames laboratoriais realizados para o trânsito interestadual e/ou participação em eventos agropecuários controlados pelos serviços oficiais de defesa sanitária animal. A maior parte do efetivo testado pertence a rebanhos de alto valor zootécnico em que a doença está controlada e, muitas vezes, o mesmo animal é testado mais de uma vez em um curto período. Não há um estudo de prevalência de AIE para que se possa estabelecer uma política sanitária adequada para o controle e futura erradicação da enfermidade.

2.2.3. Patogenia

Após a inoculação, o vírus se multiplica em tecidos ricos em macrófagos maduros, como baço, fígado, linfonodos, pulmões, rins e adrenais. Conforme há o aumento da liberação de viriões e a formação de complexos antígeno-anticorpo na corrente sanguínea ocorre a evolução dos sinais clínicos. Após a diminuição da viremia o vírus permanece nos tecidos, onde pode deixar de produzir

antígenos virais nas células e permanecer por longo período inócuo à célula hospedeira. Durante esse período o vírus é pouco reconhecido pelo sistema imune, devido às mutações genéticas provocadas pela transcriptase reversa e pela capacidade do vírus em inserir o seu DNA no DNA da célula do hospedeiro. Episódios recorrentes de viremia podem ocorrer devido à variação antigênica do vírus. Nessas ocasiões, o vírus isolado do sangue pode ser antigenicamente diferente do vírus isolado originalmente. Essas variações antigênicas estão associadas às glicoproteínas “gp 90” e “gp 45”. O período de incubação do vírus é de 2 a 4 semanas. Após esse período, os equinos podem apresentar síndrome febril aguda, subaguda ou crônica, ou não aparentar sinais clínicos (RADOSTITS, 2000).

2.2.4. Sinais Clínicos

Na síndrome aguda observa-se febre intermitente ($>41^{\circ}\text{C}$), severa trombocitopenia, anemia leve a moderada, anorexia, depressão e fraqueza. Outros sinais clínicos, observados ocasionalmente, incluem icterícia, edema do abdômen ventral, prepúcio e membros, petéquias nas mucosas, principalmente na língua e conjuntiva, aumento da frequência cardíaca e aumento de tamanho do baço, detectado na palpação retal. Equídeos que se recuperam da síndrome aguda podem desenvolver a síndrome subaguda ou crônica em 2-3 semanas após o episódio inicial. Essa síndrome é caracterizada por episódios recorrentes de febre, emagrecimento, fraqueza, edema do abdômen ventral e palidez das mucosas. Esses sinais iniciam após situações estressantes ou, menos frequentemente, após o uso de corticóides. No exame hematológico os principais achados são de anemia, provocada pela destruição de eritrócitos por macrófagos, associada à adesão de complexos antígeno-anticorpo à membrana da célula, e ao dano direto do vírus às células precursoras eritróides da medula óssea; e trombocitopenia, também associada à adesão de complexos antígeno-anticorpo a membrana das plaquetas. A diminuição do número de plaquetas está associada, também, a sua ativação e a formação de agregados plaquetários (CRAIGO et al.,

2002; CRAIGO et al., 2009; SMITH, 2002). Silva et al. (2001) também relatam leucopenia, supressão transitória da resposta imunológica e aumentos significativos nos níveis de cobre e de enzimas hepáticas. Estes autores também afirmam que a maioria dos animais infectados não parece demonstrar nenhuma das anormalidades clínicas citadas anteriormente.

Silva et al. (2001) relataram que sinais neurológicos e lesões do sistema nervoso central podem estar associados à doença e, outros sinais clínicos, como perda de peso, depressão, desorientação, andar em círculos e hipertermia, têm sido observados. Oaks et al. (2004) afirmam que a doença neurológica é raramente observada em infecção pelo VAIE, mas há, ocasionalmente, sinais clínicos compatíveis como encefalomielite multifocal a difusa. Estes autores relataram um caso de leucoencefalite periventricular em um equino infectado cronicamente com VAIE que não apresentava os sinais clínicos característicos de infecção aguda e afirmaram que as lesões observadas estavam diretamente associadas com a alta taxa de replicação viral, a qual ocorria seletivamente no local da lesão e não em outros tecidos.

2.2.5. Diagnóstico

Como a AIE é uma enfermidade caracterizada por um grande percentual de portadores assintomáticos, o diagnóstico laboratorial é de fundamental importância para detecção dos portadores da doença (LAGE et al., 2007).

Em 1970, o teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), também conhecido como teste de Coggins (COGGINS et al., 1972), foi descrito constituindo um marco no diagnóstico da AIE, por ser de fácil execução, (ALVAREZ et al., 2007) e apresentar sensibilidade de 98,8% e especificidade de 100% (COGGINS et al., 1972). Foi o primeiro teste disponível comercialmente e o único teste prescrito, oficialmente, para trânsito pela Organização Mundial de Saúde Animal, apesar de apresentar algumas limitações, dentre elas, a incapacidade de detectar anticorpos para o vírus da AIE nos estágios iniciais da doença (OIE, 2008). Testes mais sensíveis e capazes de detectar

anticorpos para o VAIE, mais precocemente em relação ao IDGA e baseados no teste de ELISA tem sido descritos. Os testes de IDGA e ELISA baseiam-se, primariamente, na detecção de anticorpos para a proteína do core viral denominada p26, porém já foi demonstrado que os anticorpos específicos para a glicoproteína gp90 da superfície viral são 10^2 a 10^3 vezes mais abundantes do que anticorpos específicos para p26, sendo também os primeiros a serem detectados no sangue (ALMEIDA et al., 2006).

Um ELISA utilizando gp90 recombinante foi desenvolvido por Reis (1997) e demonstrou ser mais eficiente do que o ELISA com antígeno p26, pois detectou anticorpos para VAIE mais precocemente em animais infectados, apresentou boa correlação com os resultados do teste de IDGA e foi recomendado como teste de triagem em levantamentos sorológicos (ALMEIDA et al., 2006).

Alvarez et al. (2007) desenvolveram um teste de IDGA que utiliza um antígeno recombinante para p26 e descreveram uma excelente performance com eficiência similar ao teste de IDGA comercial. Os autores sugeriram a utilização deste método como teste oficial para diagnóstico e controle da AIE na Argentina. Pierezan (2009) afirma que testes para detecção do RNA viral ou DNA próviral no sangue e nos tecidos estão sendo desenvolvidos.

Como auxílio no diagnóstico, pode-se realizar o exame *post-mortem* para observação das lesões macroscópicas e microscópicas. Na necropsia, além dos achados descritos clinicamente, observa-se esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenomegalia, emaciação e acentuação do padrão lobular do fígado. Histologicamente observa-se eritrofagocitose e hemossiderose no fígado, baço e linfonodos. As lesões nos linfonodos são caracterizadas por infiltrado inflamatório constituído por linfócitos e macrófagos, necrose linfóide e hiperplasia linfóide nos casos agudos. As lesões renais consistem de glomerulonefrite por deposição de imunocomplexos (PIEREZAN, 2009).

2.2.6. Profilaxia

Estudos têm sido realizados a fim de desenvolver uma vacina eficiente contra AIE, visando aplicar as técnicas para a produção de vacinas contra outras lentivirose, inclusive contra o HIV-1 (TAGMYER et al., 2008; TAYLOR et al., 2010).

Wang et al. (2011) relataram o uso de uma vacina atenuada para AIE na China, que foi desenvolvida em 1970 e contribuiu para o controle da doença no país. Durante a atenuação da vacina, 4 cepas-chaves foram geradas. Neste estudo foi analisado o genoma proviral destas quatro cepas e foi encontrada uma série de substituições nestas cepas. Estas mutações forneceram informação útil para entender a base genética da atenuação do VAIE. Os resultados sugerem que múltiplas mutações em uma variedade de genes nas vacinas atenuadas do VAIE não somente forneceram uma base para a atenuação da virulência e induziram imunidade, mas também reduziram consideravelmente o risco de reversão para virulência.

Não há tratamento eficaz (SOUZA et al., 2008) para a AIE. O controle e prevenção da doença baseiam-se na identificação e eutanásia dos positivos para saneamento do rebanho (LAGE et al., 2007).

No Brasil as medidas de controle e profilaxia à AIE seguem o Programa Nacional de Sanidade de Equídeos (PNSE), desde 1981, através da Portaria nº 200, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A AIE está incluída entre as doenças passíveis de medidas previstas no Regulamento de Defesa Sanitária Animal – MAPA – (Decreto Federal 24.548/1934). Atualmente, está em vigor a Instrução Normativa nº 45, de 15 de junho de 2004, do MAPA, a qual contém normas para prevenção e o controle da AIE, sendo obrigatória a notificação da doença no território brasileiro (BRASIL, 2004c).

Na propriedade em que for detectado o foco de AIE, deverá ser adotado as seguintes medidas: interdição da propriedade após identificação do equídeo portador; realização de investigação epidemiológica da propriedade com casos positivos, incluindo histórico de trânsito; eutanásia, que deverá ser rápida e indolor, sob responsabilidade do serviço veterinário oficial; desinterdição da

propriedade foco após realização de dois exames consecutivos, com intervalo de 30 dias, com resultados negativos para AIE em todos os equídeos existentes na propriedade; orientação aos proprietários das propriedades que se encontrarem na área perifocal, pelo serviço veterinário oficial, para que submetam seus animais a exames laboratoriais para diagnóstico de AIE (BRASIL, 2004c).

No Pantanal, SILVA et al. (2001) sugeriram o isolamento de equídeos positivos nas propriedades, já que não seria possível a eutanásia de todos os animais, pois a prevalência da doença é muito alta na região. Dessa forma, após o diagnóstico laboratorial, é necessária a separação entre animais positivos e negativos. Os grupos de animais positivos e negativos devem ser postos em piquetes ou invernadas distintas, distando no mínimo 200 metros, para prevenir a transmissão por vetores. Além de facilitar o manejo dos animais, é recomendável a utilização de invernadas centrais (particularmente para o grupo negativo), uma vez que as periféricas facilitam a transmissão por vetores, a partir de animais positivos de propriedades vizinhas. Cuidados adicionais incluem o afastamento dos animais negativos (mínimo 200 metros) de áreas onde exista trânsito ou permanência, mesmo que eventual e breve, de animais estranhos à fazenda. Os animais devem ser manejados separadamente para evitar contaminação por fômites.

Almeida et al. (2006) afirmam que o fato da enfermidade ser caracterizada por um grande percentual de portadores assintomáticos induz os proprietários a não participarem das ações de combate à doença, prescritas em lei, principalmente em relação à eutanásia imediata dos portadores e à interdição, do trânsito de equídeos nas fazendas, até o completo saneamento do foco, fazendo com que a doença se mantenha no campo.

Weiblen (2007) afirma que criadores e proprietários devem manter vigilância constante em seus rebanhos, pois os mesmos constituem valioso patrimônio à equinocultura brasileira. Tendo em vista a importância da AIE para o Brasil, as autoridades sanitárias devem elaborar uma política sanitária rígida que levasse em consideração as características diferenciais da enfermidade de acordo com os diferentes ecossistemas do país, tipos de exploração e manejo, finalidade e aptidão dos animais e densidade populacional, a fim de garantir a continuidade dessa importante atividade agropecuária brasileira.

3. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo caracterizar a situação epidemiológica do mormo e da anemia infecciosa equina em equídeos de tração do Distrito Federal, estimando a prevalência destas doenças e identificando possíveis fatores de risco associados a elas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, V.M.A.; GONÇALVES, V.S.P.; MARTINS, M.F.; HADDAD, J.P.A.; DIAS, R.A.; LEITE.R.C.; REIS, J.K.P. Anemia infecciosa eqüina: prevalência em eqüídeos de serviço em Minas Gerais. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.58, n.2, p.141-148, 2006.

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. Veterinary Microbiology, v.121, p. 344–351, 2007.

BRASIL. As Doenças dos Animais no Brasil - Histórico das Primeiras Observações. Boletim de Defesa Sanitária Animal, número especial, p.59-61, 1988.

BRASIL. Estratégia de Combate ao Mormo. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2000.

BRASIL. Instrução Normativa N° 12, de 29 de janeiro de 2004, da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 14 de junho de 2011. (a)

BRASIL. Instrução Normativa N° 24, de 5 de abril de 2004, da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 24 de novembro de 2010. (b)

BRASIL. Instrução Normativa N° 45, de 15 de junho de 2004, da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 24 de novembro de 2010. (c)

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2011. Equídeos. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>>. Acesso em: 19 de mai. 2011.

BRIDGET, C.G.; WAAG, D.M. Glanders. In: BORDEN INSTITUTE. Medical Aspects of Biological Warfare. p. 121-146, 2007.

CHAVES, D.P. 2009. Resultados do exame de mormo. Disponível em: <<http://www.cernitas.com.br/content/2009/12/resultados-do-exame-de-mormo/>>. Acesso em: 14 de jun. 2011.

CICCO, L.H.S. 2011. Cavalo. Disponível em: <<http://www.saudeanimal.com.br/cavalo1.htm>>. Acesso em: 16 de jun. 2011.

COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa. vol.2. Oxford University Press. 1994. p.800-802.

COGGINS L., NORCROSS N.L., NUSBAUM S.R. Diagnosis of equine infectious anaemia by immunodiffusion test. Am. J. Vet. Res., 33, 11-18, 1972.

CRAIGO, J.K.; LEROUX, C.; HOWE, L.; STECKBECK, J.D.; COOK, S.J.; ISSEL, C.J.; MONTELARO, R.C. Transient immune suppression of inapparent carriers infected with a principal neutralizing domain-deficient equine infectious anaemia virus induces neutralizing antibodies and lowers steady-state virus replication. Journal of General Virology, n. 83, p.1353–1359, 2002.

CRAIGO, J.K.; BARNES, S.; ZHANG, B.; COOK, S.; HOWE, L.; ISSEL, C.J.; MONTELARO, R.C. An EIAV field isolate reveals much higher levels of subtype variability than currently reported for the equine lentivirus family. Retrovirology, v.6, n.95, 2009.

DISTRITO FEDERAL. Núcleo de Sanidade dos Equídeos, Ovinos e Caprinos da Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Distrito Federal. 2010.

ELSCHNER, M.C.; KLAUS, C.U.; LIEBLER-TENORIO, E.; SCHMOOCK, G.; WOHLSEIN, P.; TINSCHMANN, O.; LANGE, E.; KADEN, V.; KLOPFLEISCH, R.; MELZER, F.; RASSBACK, A.; NEUBAUER, H. *Burkholderia mallei* infection in a horse imported from Brazil. Equine Veterinary Education, v.21, n.3, p.147-150, 2009.

FIORILLO, K. S. Prevalência de anemia infecciosa equina em haras de Minas Gerais. 2011. Dissertação (Programa de Mestrado em Saúde Animal) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

FLORES, E.F. Virologia Veterinária. Editoraaufsm. 2007. p. 829-831.

GALYOV, E.E.; BRETT, P.J.; DESHAZER, D. Molecular insights into *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei* pathogenesis. Annual Review of Microbiology, v.64, p.495-517, 2010.

GREGORY, B.C.; WAAG, D.M. Medical Aspects of Biological Warfare. Glanders. Disponível em: <http://www.bordeninstitute.army.mil/published_volumes/biological_warfare/bw-ch06.pdf>. Acesso em: 22 de nov. 2010.

HAGEBOCK, J.M.; SCHLATER, L.K.; FRERICHS, W.M.; OLSON, D.P. Serologic responses to the mallein test for glanders in solipeds. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v.5, p.97-99, 1993.

HEINEMANN, M.B.; CORTEZ, A.; SOUZA, M.C.C.; GOTTI, T.; FERREIRA, F.; HOMEM, V.S.F.; FERREIRA NETO, J.S.; SOARES, R.M.; SAKAMOTO, S.M.; CUNHA, M.S.; RICHTZENHAIN, L.J. Soroprevalência da anemia infecciosa equina, da arterite viral dos eqüinos e do aborto viral eqüino no município de Uruará, PA, Brasil. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v.39, n.1, p. 50-53, 2002.

JÚNIOR, P.G. A equinocultura brasileira inserida no agronegócio. In: 1º Simpósio Equestre do DF – Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA). 2010.

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, v. 09, n. 9, p.01-13, 2010.

KATZ, J.; DEWALD, R.; NICHOLSON, J. Procedurally similar competitive immunoassay systems for the serodiagnosis of *Babesia equi*, *Babesia caballi*, *Trypanosoma equiperdum*, and *Burkholderia mallei* infection in horses. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v.12, p.46-50, 2000.

KERBER, C.E. Reaparecimento do mormo. Disponível em: <http://www.abraveq.com.br/artigo_0001.html>. Acesso em: 24 de nov. 2010.

LAGE, R.A.; QUEIROZ, J.P.A.F.; SOUSA, F.D.N.; AGRA, E.G.D.; IZABEL, M.A.; DIAS, R.V.C.D. Fatores de risco para a transmissão da anemia infecciosa eqüina, leptospirose, tétano e raiva em criatórios eqüestres e parques de vaquejada no município de Mossoró, RN. *Acta Veterinária Brasileira*, v.1, n.3, p.84-88, 2007.

LEE, M.A.; WANG, D.; YAP, E.H. Detection and differentiation of *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei* and *Burkholderia thailandensis* by multiplex PCR. . *Federation of European Microbiological Societies Immunology and Medical Microbiology*, v.43, p.413-417, 2005.

LIMA, R.A.S. 2007. As dimensões da equinocultura no Brasil. Disponível em: <<http://www.agrolink.com.br/colunistas/ColunaDetalhe.aspx?CodColuna=2451>>. Acesso em: 24 de nov. 2010.

LOSADA, L.; RONNING, C.M.; DESHAZER, D.; WOODS, D.; FEDOROVA, N.; KIM, H.S.; SHABALINA, S.A.; PEARSON, T.R.; BRINKAC, L.; TAN, P.; NANDI, T.; CRABTREE, J.; BADGER, J.; STERNBERG, S.B.; SAQIB, M.; SCHUTZER, S.E.; KEIM, P.; NIERMAN, W.C. Continuing evolution of *Burkholderia mallei* through genome reduction and large-scale rearrangements. *Genome Biology and Evolution*, v.2, p.102-116, 2010.

MOTA, R.A.; BRITO, M.F.; CASTRO, F.J.C.; MASSA, M. Mormo em equídeos nos estados de Pernambuco e Alagoas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 20, n.4, p.155-159, 2000.

MOTA, R.A. Aspectos etiopatológicos, epidemiológicos e clínicos do mormo. *Veterinária e Zootecnia*, v.13, n.2, p.117-124, 2006.

MOTA, R.A.; OLIVEIRA, A.A.F.; JUNIOR, W.P.; SILVA, L.B.G.; BRITO, M.F.; RABELO, S.S.A. Glanders in donkeys (*Equus asinus*) in the state of Pernambuco, Brasil: a case report. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.41, p.146-149, 2010.

NAUREEN, A.; SAQIB, M.; MUHAMMAD, G.; HUSSAIN, M.H.; ASI, M.N. Comparative evaluation of rose bengal plate agglutination test, mallein test, and

some conventional serological tests for diagnosis of equine glanders. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.19, p.362-367, 2007.

NEUBAUER, H.; SPRAGUE, L.D.; ZACARIA, R.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; WEMERY, R.; WEMERY, U.; SCHOLZ, H.C. Serodiagnosis of *Burkholderia mallei* Infections in Horses: State-of-the-art and Perspectives. *The Journal of Veterinary Medicine*, v.52, n.5, p.201-205, 2005.

NOCITI, R.P.; NOCITI, D.L.P.; ROCHA, T.G.; AVILA, M.O.; SILVA, G.C.P. 2008. Prevalência da anemia infecciosa eqüina no estado do Mato Grosso de 2004 a 2007.

Disponível em: <
<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0630-3.pdf>>.

Acesso em: 24 de nov. 2010.

OAKS, J.L.; LONG, M.T.; BASZLER, T.V. Leukoencephalitis associated with selective viral replication in the brain of a pony with experimental chronic equine infectious anemia virus infection. *Veterinary Pathology*, v.41, p.527–532, 2004.

OIE- Organização Mundial de Saúde Animal. *Terrestrial Manual*, chapter 2.5.6- Equine Infectious Anaemia, 2008.

PIEREZAN, F. Prevalência das doenças de eqüinos no Rio Grande do Sul. 2009. Dissertação (Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Rurais, Universidade de Santa Maria, Santa Maria.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. *Veterinary Medicine – A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 9 ed. WB Saunders Company. 2000. p. 1032-1036.

ROWLAND, C.A.; LEVER, M.S.; GRIFFIN, K.F.; BANCROFT, G.J.; LUKASZEWSKI, R.A. Protective cellular responses to *Burkholderia mallei* infection. *Microbes and Infection*, v.12, p.846-853, 2010.

SANTOS, F.L.; FILHO, H.C.M.; MENDONÇA, C.L. Mormo. In: RIET, F.C.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R. J. *Doenças de ruminantes e equídeos*. 3° ed, v.1, Fernovi Editora, p.394-404, 2007.

SHELL, M.A.; ULRICH, R.L.; RIBOT, W.J.; BRUEGGEMANN, E.E.; HINES, H.B.; CHEN, D.; LIPSCOMB, L.; KIM, H.S.; MRÁZEC, J.;

NIERMANW.C.; DESHAZER, D. Type VI secretion is a major virulence determinant in *Burkholderia mallei*. *Molecular Microbiology*, v.64, n.6, p.1466-1485, 2007.

SILVA, R.A.M.S.; ABREU, U.G.P.; BARROS, A.T.M. Anemia Infeciosa Equina:

Epizootiologia, Prevenção e Controle no Pantanal. Circular Técnica nº 29. EMBRAPA PANTANAL, 2001.

SILVA, L.B.G.; SILVA NETO, J.B.; BRITO, M.F.; MAIA, F.C.L.; SILVA JÚNIOR, V.A.; MOTA, R.A. Lesões anatomo-histopatológicas em cobaias (*Cavia porcellus*), experimentalmente infectados pela *Burkholderia mallei*. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.72, n.1, p.23-28, 2005.

SILVA, K.P.C.; MOTA, R.A.; CUNHA, A.P.; SILVA, L.B.G.; LEAL, N.C.L.; CAVALCANTE, Y.V.N.; TELES, J.A.A.; PEREIRA, M.C.C.; FREITAS, N.S. Caracterização fenotípica e molecular de amostras de *Burkholderia mallei* isoladas na Região Nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.29, n.5, p.439-444, 2009.

SILVER, C. Tudo sobre cavalos – um guia mundial de 200 raças. Martins Fontes. 1976. p.11-16.

SMITH, B.P. *Large Animal Internal Medicine*. 3 ed. Mosby. 2002. p.1056-1058.

SOUZA, A.O.; SALVATTI, J.R.Jr., PICCININ, A. Anemia infecciosa eqüina. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, n.10, 2008.

SPRAGUE, L.D.; ZYSK, G.; HAGEN, R.M.; MEYER, H.; ELLIS, J.; ANUNTAGOOL, N.; GAUTHIER, Y.; NEUBAUER, H. A possible pitfall in the identification of *Burkholderia mallei* using molecular identification systems based on the sequence of the flagellin *fliC* gene. *Federation of European Microbiological Societies Immunology and Medical Microbiology*, v.34, p.231-339, 2002.

SPRAGUE, L.D.; ZACHARIAH, R.; NEUBAUER, H.; WERNERY, R.; JOSEPH, M.; SCHOLZ, H.C.; WERNERY, U. Prevalence-dependent use of serological tests for diagnosing glanders in horses. *BioMed Central Veterinary Research*, v.5, n.32, 2009. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/5/32>>. Acesso em: 19 de mai. 2011.

SUPPIAH, J.; THIMMA, J.S.; CHEAH, S.H.; VADIVELU, J. Development and evaluation of polymerase chain reaction assay to detect *Burkholderia* genus and to differentiate the species in clinical specimens. Federation of European Microbiological Societies Immunology and Medical Microbiology, v.306, p.9-14, 2010.

TAGMYER, T.L.; CRAIGO, J.K.; COOK, S.J.; EVEN, D.L.; ISSEL, C.J.; MONTELARO, R.C. Envelope determinants of equine infectious anemia virus vaccine protection and the effects of sequence variation on immune recognition. Journal of Virology, v.82, n.8, p.4052–4063, 2008.

TAYLOR, S.D.; LEIB, S.R.; CARPENTER, S.; MEALEY, R.H. Selection of a rare neutralization-resistant variant following passive transfer of convalescent immune plasma in equine infectious anemia virus-challenged SCID horses. Journal of Virology, v.84, n.13, p.6536-6548, 2010.

THE CENTER FOR FOOD SECURITY & PUBLIC HEALTH. Glanders. 2007. Disponível em: <<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/glanders.pdf>>. Acesso em: 22 de nov. 2010.

WANG, X.; WANG, S.; LIN, Y.; JIANG, C.; MA, J.; ZHAO, L.; LV, X.; WANG, F.; SHEN, R.; KONG, X.; ZHOU, J. Genomic comparison between attenuated Chinese equine infectious anemia virus vaccine strains and their parental virulent strains. Archives of Virology, v.156, p.353-357, 2011.

WEIBLEN, R. Anemia Infecciosa Equina. In: RIET, F.C.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R. J. Doenças de ruminantes e equídeos. 3º ed, v.1, Fernovi Editora, p.62-71, 2007.

WHITLOCK, G.C.; ESTES, D.M.; TORRE, A.G. Glanders: off to the races with *Burkholderia mallei*. Federation of European Microbiological Societies, p.115-122, 2007.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). 2009. Glanders. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/maladies/Technical%20disease%20cards/GLANDERS_%20FINAL.pdf>. Acesso em: 22 de nov. 2010.

WORLD ANIMAL HEALTH INFORMATION DATABASE (WAHID). 2008. Glanders. Disponível em:

<http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_immediate_summary&selected_year=2008>. Acesso em: 19 de mai. 2011.

WORLD ANIMAL HEALTH INFORMATION DATABASE (WAHID). 2010. Glanders. Disponível em: <http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_immediate_summary&selected_year=2010>. Acesso em: 19 de mai. 2011.

CAPÍTULO II

PREVALÊNCIA DE MORMO EM EQUÍDEOS DE TRAÇÃO DO DISTRITO FEDERAL

GLANDERS PREVALENCE IN TRACTION EQUIDS FROM DISTRITO FEDERAL

RESUMO

O mormo é uma doença infecciosa causada por um bacilo Gram-negativo denominado *Burkholderia mallei* que acomete principalmente os equídeos, sendo o homem um hospedeiro acidental. Em 2010 foi diagnosticado o primeiro caso de mormo no DF, nesse contexto, este trabalho teve como objetivo realizar um estudo da prevalência de mormo em propriedades de equídeos de tração, assim como fatores de risco associados à doença. Foram sorteados aleatoriamente 350 proprietários e foram amostrados todos os equídeos de cada proprietário sorteado, totalizando 496 animais. Foi aplicado um questionário epidemiológico para a análise de possíveis fatores de risco. O protocolo de diagnóstico foi composto pela triagem com o teste de fixação de complemento (FC) e os animais reagentes foram submetidos a dois testes da maleína consecutivos com intervalo de 45 dias. Nenhum animal apresentou resultado positivo ao teste da maleína, estes resultados permitem concluir com 95% de confiança que se a doença estiver presente no DF, a sua prevalência seja inferior a 0,85%. O serviço oficial deve manter uma vigilância ativa, principalmente, devido ao fato da população estudada não ser submetida a exames com periodicidade e pela comercialização frequente desses animais. Sugere-se a utilização de testes diagnósticos mais eficazes, de fácil execução e menos subjetivos a fim de se evitar restrições desnecessárias ao trânsito de equídeos. Verificou-se ainda que o teste de FC

tende a dar mais resultados falso-positivos em muare e que os programas de educação sanitária devem ser intensificados e direcionados para a população alvo.

Palavras-chave: Mormo, equídeos de tração, prevalência, DF, FC, maleína.

ABSTRACT

Glanders is an infectious disease caused by a Gram-negative bacillus known as *Burkholderia mallei* that primarily is responsible for disease in equids and occasionally humans. In 2010 was diagnosed the first case of glanders in Distrito Federal (DF), in this context, the objective of this study was to estimate the prevalence of glanders in traction equids properties, in order to identify potential risk factors and epidemiology. Three hundred and fifty owners were randomly sampled and all equids from each random owner were sampled, totalizing 496 animals. It was applied an epidemiological questionnaire to analyze possible risk factors associated with the disease. The diagnostic was based in a screening with complement fixation test (CFT) and the positive animals were submitted to two consecutives mallein tests with the interval of 45 days. None of the animals was glanders positive and was observed that, if the disease exists in DF, there is a probability of 95% that the prevalence is lower than 0,85%. In conclusion, although glanders prevalence is very low in DF, the official service should maintain an active vigilance, mainly, because of the survey population are not submitted to periodic tests and because of the frequent commercialization of these animals. Moreover, we suggest the use of more efficient diagnostic tests, with easy execution and less subjective in order to prevent unnecessary restrictions to equids transit. Additionally, was verified that the CFT usually results false-positive in mules samples and the programs of sanitary education should be intensified and directed to the population that works with equids.

Keywords: Glanders, traction equids, prevalence, DF, CFT, mallein.

INTRODUÇÃO

O mormo é uma doença infecciosa causada por uma bactéria denominada *Burkholderia mallei*, um bacilo Gram-negativo, imóvel e intracelular facultativo. Os equídeos são os principais hospedeiros, porém, felinos, camelos e caprinos também são susceptíveis à infecção e o homem é hospedeiro acidental, sendo, geralmente, uma doença ocupacional (SCHELL et al., 2007).

O mormo possui uma história antiga, iniciando antes de Aristóteles no ano 350 a.C, quando a doença foi chamada de “Melis” (WHITLOCK et al., 2007). No Brasil, os registros datam no final do Século XIX quando ocorreram casos de mormo tanto em animais de serviço, quanto em humanos do Exército Brasileiro. No Brasil a doença foi descrita pela primeira vez em 1811, introduzida provavelmente por animais infectados importados da Europa, desencadeando-se verdadeiras epizootias em vários pontos do território nacional, vitimando muares, cavalos e humanos que adoeceram com sintomatologia de catarro e cancro nasal. As perdas no plantel foram enormes e levaram, inclusive, à contratação de médicos veterinários franceses para ajudarem a controlar os sucessivos surtos. Após vários relatos da ocorrência da enfermidade em equídeos e humanos, com caracterização dos achados epidemiológicos, clínicos, microbiológicos e anatomo-histopatológicos, a doença parecia ter sido erradicada no Brasil; a última referência a um foco de mormo foi no município de Campos, estado do Rio de Janeiro (MOTA et al, 2000) e em 1968, no município de São Lourenço da Mata, estado de Pernambuco (SANTOS et al., 2007). Posteriormente, verificou-se que os casos de mormo permaneceram, durante anos, restritos a populações de equídeos na região Nordeste (MOTA et al, 2000).

A principal via de infecção é a digestiva, por meio de alimentos e água contaminados. Outras vias, tais como a respiratória e a cutânea, são menos envolvidas. A doença se manifesta, tipicamente, na forma aguda ou crônica, sendo que a forma crônica, geralmente, ocorre em equinos e a forma aguda em muares e asininos (SANTOS et al., 2007).

A doença se manifesta na forma aguda e crônica. Na forma aguda da doença a morte por septicemia ocorre em poucos dias. A fase crônica é

caracterizada por três formas de manifestação clínica: a nasal, a pulmonar e a cutânea, podendo o mesmo animal apresentar todas as formas simultaneamente. Na forma nasal, observa-se lesões nodulares na mucosa nasal que evoluem para úlceras que após a cicatrização formam lesões em forma de estrelas, os linfonodos submandibulares podem estar reativos. A forma pulmonar é caracterizada por pneumonia crônica com tosse, epistaxe, respiração laboriosa e dispnéia; no início há uma secreção nasal serosa que evolui para purulenta, com estrias de sangue. Outros sinais clínicos menos específicos incluem febre, apatia e caquexia. Na forma cutânea da doença observam-se nódulos endurecidos ao longo do trajeto dos vasos linfáticos, principalmente na região abdominal, costado e na face medial dos membros posteriores. Estes nódulos, com a evolução da doença, tornam-se flácidos, fistulam drenando conteúdo purulento e evoluem para úlceras. Estas lesões nodulares na pele ocorrem a distâncias aproximadamente iguais, resultando em arranjos em forma de colar de pérolas ou rosário (MOTA, 2006; GALYOV et al., 2010).

O diagnóstico do mormo consiste na associação dos aspectos clínico-epidemiológicos, anatomo-histopatológicos, isolamento bacteriano, inoculação em animais de laboratório, reação imunoalérgica (maleinização) e testes sorológicos (MOTA, 2006). Oficialmente, para fins de diagnóstico e de controle do mormo no Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento recomenda a realização dos testes de fixação de complemento (FC) e maleína (BRASIL, 2004). Segundo o MAPA (2004), um equídeo é considerado positivo para mormo quando é reagente ao teste de FC e apresenta sinais clínicos da doença ou quando é reagente ao teste de FC e maleína, mesmo sem sintomatologia clínica. Animais que permanecerem sem reação, após a segunda maleinização, terão diagnóstico negativo conclusivo e receberão o atestado correspondente, emitido pelo serviço oficial, com validade de 120 dias, não podendo ser novamente submetidos à prova de FC durante este período.

O teste da maleína foi o primeiro teste diagnóstico para o mormo e tem sido o melhor teste para diagnóstico a campo e programas de erradicação desde 1890. Nas doenças clínicas avançadas em equinos e infecção aguda em muares e asininos, entretanto, o teste da maleína pode apresentar resultados

inconclusivos. Nestes casos, outros métodos diagnósticos são necessários (BRIDGET et al., 2007).

Não há nenhuma vacina contra a infecção da *B. mallei* e o tratamento não é recomendado, sendo obrigatória a eutanásia dos animais positivos (BRASIL, 2004).

Observando-se o surgimento do primeiro caso de mormo no Distrito Federal (DF), em Abril de 2010 (WAHID, 2010) este trabalho teve como objetivo estimar a prevalência desta doença e identificar possíveis fatores de risco associados a ela, visto que estes animais possuem grande importância econômica para a população que os utiliza para trabalhar e grande importância sanitária, visto que estes animais transitam diariamente pelo DF e não são submetidos a exames periódicos por seus proprietários.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostragem

O estudo foi realizado no Distrito Federal que é a menor Unidade da Federação, ocupando uma área de 5.801, 937 km² (IBGE, 2002).

Como base de cadastro de proprietários de equídeos de tração do Distrito Federal foi utilizado o banco de dados de animais de tração da Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SEAPA-DF). Segundo o Decreto nº 27.122, de Agosto de 2006, compete a esta Secretaria, realizar a identificação eletrônica e emitir a licença para os animais utilizados nos veículos de tração. Devido a isso, a SEAPA/DF possui um banco de dados dos equídeos destinados a este tipo de trabalho, no qual, há, atualmente, 1013 proprietários e 1447 equídeos cadastrados. Sabe-se que a população de proprietários de equídeos de tração é superior ao número cadastrado, portanto, para o cálculo da amostra, a população foi considerada quatro vezes maior que a população cadastrada para evitar perda de precisão amostral.

O número total de proprietários a serem amostrados foi determinado pela fórmula para amostras simples aleatórias, usando o programa Epi Tools®

(SERGEANT, 2009). Os parâmetros adotados para o cálculo foram: nível de confiança de 0,95, prevalência estimada de 0,01, erro de 0,01 e população total de 4100. A capacidade operacional e financeira do serviço veterinário oficial também foi levada em consideração para a determinação do tamanho da amostra.

Dessa forma, foi realizada uma amostragem aleatória simples sistemática de 350 proprietários, distribuídos geograficamente de acordo com a população em cada uma das quatro regiões pré-definidas, de acordo com a localização dos escritórios da Diretoria de Defesa e Vigilância Sanitária da SEAPA-DF.

Cada proprietário foi considerado uma unidade primária de amostragem e todos os equídeos foram amostrados. Conforme demonstrado na tabela 2, foram amostrados 496 animais nas quatro regiões, representando cerca de 35% da população cadastrada.

Em alguns casos não foi possível localizar os proprietários sorteados e estes proprietários foram substituídos por outros encontrados no momento das coletas de sangue.

Tabela 2: Número de proprietários de equídeos de tração existentes e número de proprietários e animais amostrados por região.

Nº	Região	Total de Proprietários	Proprietários Amostrados	Animais Amostrados
1	Brazlândia	549	181	264
2	Gama	169	68	99
3	Sobradinho	106	38	52
4	Planaltina	189	63	81
TOTAL		1013	350	496

Coleta de Material e Questionário Epidemiológico

O sangue foi coletado por meio de punção da veia jugular, utilizando agulha individual e tubos de colheita a vácuo sem anticoagulante, de cada animal foi colhida uma amostra de 4 mL de sangue. O soro foi separado por

centrifugação, em centrífuga de ângulo fixo para tubos de 15 ml, durante 5 minutos a 2.500 rotações por minuto. O soro foi separado em duas amostras e transferido para microtubos plásticos de 1,5 – 2 ml por meio do uso de pipeta digital, identificado e congelado a -20°C. O processamento do sangue foi realizado no Laboratório da SEAPA/DF.

O soro congelado foi encaminhado em caixas de embalagem tripla, com gelo reciclável, por meio de transporte aéreo para o Laboratório Nacional Agropecuário do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, localizado em Recife, Pernambuco – LANAGRO/PE, para realização do exame de fixação de complemento para mormo. A segunda amostra permaneceu congelada no Laboratório da SEAPA caso fosse necessário envio de outra amostra para o laboratório oficial.

Em cada propriedade amostrada, além da coleta de sangue para os testes diagnósticos, foi aplicado um questionário epidemiológico contendo os dados de cada proprietário e informações específicas de cada animal, para permitir a realização do estudo de possíveis fatores de risco associados à doença estudada, como espécie, idade e sexo dos animais; número de equídeos do proprietário; local onde o proprietário compra os animais; local onde os animais permanecem; utilização da mesma agulha para vários animais e periodicidade de realização de exames (Anexo I).

Métodos de Diagnóstico

O protocolo de diagnóstico foi composto pela triagem com o teste de fixação de complemento, sendo realizada nova coleta de sangue e repetição da técnica nos casos de resultado inconclusivo. As amostras foram analisadas no LANAGRO/PE e todos os dados gerados nas coletas e testes laboratoriais foram inseridos em um banco de dados do programa computacional Microsoft® Excel que foi posteriormente utilizado nas análises epidemiológicas. Os animais positivos na FC foram submetidos a dois testes da maleína consecutivos com intervalo de 45 dias, como previsto na legislação vigente do MAPA.

A maleína foi inoculada por via intradérmica na pálpebra inferior de um dos olhos do animal, utilizando-se seringa de insulina de 0,5 mL, no volume de 0,1 mL. A leitura foi realizada 48 horas após. Foi feito o registro fotográfico de todas as inoculações e leituras da maleína.

Cálculo da Prevalência

O cálculo da prevalência foi baseado na distribuição beta, assumindo que este parâmetro é bem caracterizado pelo processo binomial. Para os cálculos utilizou-se o software @Risk 5.5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a realização do estudo verificou-se que a população de eqüídeos amostrada era representada por 96,37% (478) de equinos, sendo 38,3% (183) fêmeas e 61,7% (295) machos; e 3,63% (18) de muares, sendo 61,2% (11) fêmeas e 38,8% (7) machos; a maior parte dos animais (69,96% - 347) possuía entre 5 e 10 anos. Não foi observado nenhum asinino, pois esta espécie não é comumente utilizada como animal de tração no Distrito Federal.

Dos 496 eqüídeos amostrados, 12 apresentaram resultado inconclusivo no primeiro teste de fixação de complemento e nenhum animal apresentou resultado positivo. Foi necessário realizar nova coleta de sangue dos animais inconclusivos. Um muar veio a óbito antes da segunda coleta, segundo o proprietário, por morte súbita. Não foi possível localizar um muar e um equino, pois os animais já haviam sido comercializados. Dos 9 eqüídeos restantes, 3 eram equinos e 6 eram muares. Os 3 equinos apresentaram resultado negativo e os 6 muares apresentaram resultado positivo na fixação de complemento. Todos os animais positivos foram submetidos a dois testes da maleína com intervalo de 45 dias e nenhum apresentou reação ao teste. Nenhum dos animais suspeitos apresentou

qualquer sinal clínico sugestivo de doença respiratória durante as visitas realizadas para coleta de sangue e inoculação da maleína.

No gráfico 1, observa-se o resultado de prevalência de mormo em propriedades de equídeos de tração do DF. Neste estudo, não foi observado nenhum caso positivo. Considerando a distribuição beta utilizada e o número de propriedades amostradas é possível concluir, com 95% de probabilidade, que se a doença estiver presente no DF, a prevalência de propriedades seria inferior a 0,85%. Este resultado, aliado à observação de apenas um único caso confirmado de mormo na vigilância sistemática, permite concluir que o risco do mormo ser endêmico no DF é muito baixo.

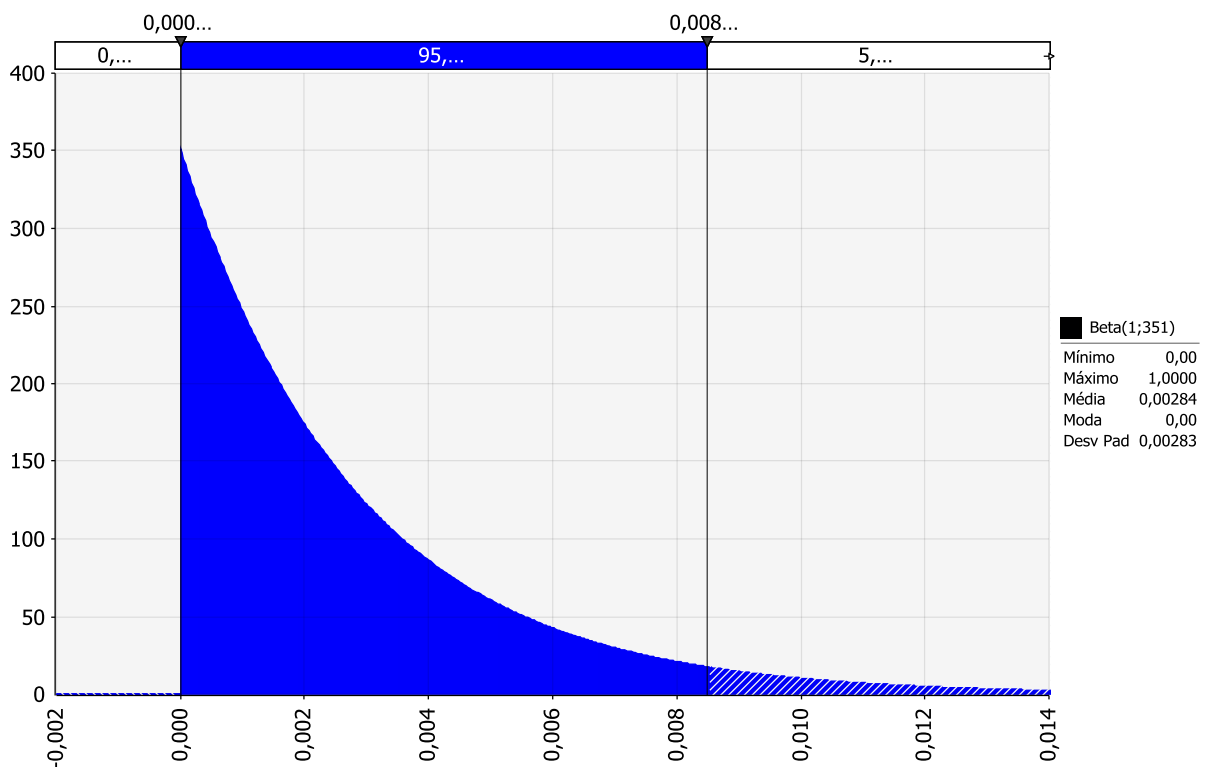


Gráfico 1: Prevalência do mormo em propriedades de equídeos de tração do Distrito Federal.

Não foi realizada a análise de fatores de risco em virtude da não observação de casos positivos, não sendo possível associar variáveis de risco com a população acometida.

Em usinas de cana-de-açúcar na região Nordeste, Mota et al. (2010) afirmam que o tipo de manejo utilizado nas propriedades, com confinamento dos animais em estábulos para alimentação, provavelmente está associado à disseminação do agente no ambiente, facilitando a infecção entre os animais. A alimentação pobre, a movimentação de animais e o excesso de trabalho podem predispor à infecção. Mota et al. (2000) observaram não haver relação entre a estação do ano e o aumento do número de casos nas propriedades onde a doença assume caráter crônico, ocorrendo mortes durante todo o ano. No DF, 49,71% (174) dos proprietários mantêm seus animais em currais comunitários, que são locais determinados pelo Governo do Distrito Federal onde os equídeos podem permanecer nos períodos de descanso. Nesses currais, acredita-se que possa haver uma maior disseminação de doenças entre os animais, inclusive o primeiro caso de mormo no DF foi uma égua proveniente de curral comunitário, porém, neste estudo, não foi possível associar esta variável de risco devido a não observação de casos positivos. Apesar dos animais serem mantidos no mesmo curral, muitos proprietários optam pela construção de baias individuais, mantendo somente os equídeos de sua propriedade em contato íntimo, compartilhando bebedouros e comedouros. Visto isso, a disseminação do mormo pode ser dificultada por não haver contato direto entre os animais de diferentes proprietários. Além disso, sabe-se que muitos equídeos permanecem nos currais somente nos períodos de descanso, estando a maior parte do dia trabalhando em vias públicas. Neste estudo também foi observado que 91,14% (319) dos proprietários possuíam até dois equídeos, não havendo grande aglomeração de animais para propiciar a disseminação da enfermidade.

Observou-se que 52% (182) dos proprietários responderam que não haviam ouvido falar em mormo, confirmando que os programas de educação sanitária devem ser intensificados, já que mais da metade dos proprietários não tinham informação sobre a doença. Além disso, muitos que respondiam positivamente à pergunta, não demonstravam conhecimento quando questionados sobre o que se tratava o mormo, como sinais clínicos apresentados pelos animais, forma de transmissão, entre outros. Portanto, essas atividades devem ser direcionadas para população que lida diretamente com os equídeos visando mantê-la ciente sobre a epidemiologia da doença e, principalmente, sobre

o risco de infecção humana, por se tratar de uma zoonose. Também durante a aplicação do questionário epidemiológico, 8,86% (31) proprietários responderam que haviam tido animais que apresentaram catarro recorrente nos últimos cinco anos, porém, durante o exame clínico, não foi observado nenhum equídeo com secreção nasal.

Apesar de não ter sido observado nenhum equídeo positivo para mormo, segundo o protocolo de diagnóstico estabelecido pelo MAPA (2004) de realização da FC seguida da maleinização, os resultados do teste de FC podem ser discutidos. Nesse estudo, os muares representaram somente 3,63% da população de equídeos amostrada, entretanto, todos os seis animais reagentes ao teste de fixação de complemento eram muares. Considerando que geralmente esses animais são mais susceptíveis e apresentam a forma aguda da doença (GALYOV et al., 2010) e que nenhum apresentou qualquer sinal clínico sugestivo de mormo, é possível afirmar que o resultado da FC foi falso-positivo.

Neubauer et al. (2005) afirmam que a FC é baseada no uso de preparado de células e isto induz a reações falso-positivas devido às reações cruzadas de antígenos gene-específicos. Bridget et al. (2007) afirmam que uma limitação da FC é que um grande percentual de muares, asininos e éguas gestantes são anticomplementares e o soro não pode ser testado de forma eficaz. No presente estudo, observou-se que os resultados falso-positivos restringiram-se à população de muares, sugerindo que o teste tende a dar mais resultados falso-positivos nesses animais.

Neubauer et al. (2005) relata que a indicação da FC para o controle do mormo em exigências internacionais data do começo do último século e foi desenvolvido como um teste para programas de erradicação para populações animais com alta prevalência. A FC foi o teste diagnóstico escolhido por causa da sua capacidade de detectar animais assintomáticos e com infecção crônica, pois estes animais são os responsáveis pela disseminação da doença e pelos novos surtos. Sprague et al. (2009) compararam o teste de FC e cELISA e concluíram que, apesar do teste de FC ser antigo e laborioso, esta técnica ainda pode ser utilizada no diagnóstico do mormo em populações com baixa prevalência. Os autores sugerem a combinação das duas técnicas, quando possível, para se evitar resultados falso-positivos e prejuízos financeiros aos proprietários. Segundo

Chaves (2009), o teste de FC possui muitas limitações durante sua execução e vários fatores podem interferir nos resultados, além de exigir pessoal treinado para a correta execução e leitura dos testes. Portanto, o teste de FC vem sendo estudado há muitos anos, entretanto, ainda existem divergências de opinião de pesquisadores quanto à sua utilização no diagnóstico do mormo em populações com baixa prevalência.

Em relação ao teste da maleína é importante ressaltar que, apesar de ser considerado o melhor teste para diagnóstico a campo e programas de erradicação do mormo, trata-se de um teste antigo, desenvolvido em 1891 (BRIDGET et al., 2007) e subjetivo, pelo fato de ser baseado em interpretação dos resultados. Segundo Bridget et al. (2007), nas doenças clínicas avançadas em equinos e infecção aguda em muare e asininos, entretanto, o teste da maleína pode apresentar resultados inconclusivos. Nestes casos, outros métodos diagnósticos são necessários. Além disso, a legislação vigente exige a realização de dois testes negativos com intervalo de 45 dias em casos de não reação no primeiro teste da maleína, o que exige a interdição do animal por um longo prazo, causando prejuízos aos proprietários e dispêndio de tempo do serviço oficial para concluir o diagnóstico e permitir o trânsito do animal, em casos negativos.

Bridget et al. (2007) também afirmam que o teste da maleína possui limitações em termos de sensibilidade diagnóstica, particularmente em casos clínicos e avançados da doença. Reações cruzadas também têm sido descritas entre *B. mallei* e *Streptococcus equi*, resultando em reações falso-positivas. Entretanto, a eficiência e a potência do teste, representado pela sua especificidade diagnóstica, estão amplamente associadas com o peso molecular das frações da proteína e com a virulência das cepas de *B. mallei* utilizadas na preparação da maleína. A proteína purificada derivada (PPD) maleína é uma mistura de ambas as frações de proteína molecular de peso alto e baixo; as proteínas de peso molecular baixo são responsáveis pelas reações inespecíficas.

Neubauer et al. (2005) afirmam que, atualmente, uma nova técnica para diagnóstico do mormo é necessária a fim de se reduzir os resultados falso-positivos, o que é frequentemente observado na FC, e principalmente em casos de baixa prevalência da doença, devem ser utilizados testes específicos para se evitar restrições desnecessárias ao trânsito de equídeos. Observando-se as

dificuldades no diagnóstico do mormo vários autores vem pesquisando diferentes testes diagnósticos. No presente estudo também foram observadas reações falso-positivas e sugere-se a complementação ou substituição dos testes diagnósticos utilizados atualmente por testes mais eficazes, de fácil execução e menos subjetivos a fim de se reduzir os resultados falso-positivos e aumentar a acurácia do diagnóstico, evitando-se restrições desnecessárias ao trânsito de equídeos.

Katz et al. (2000) desenvolveram um método de diagnóstico da *B. mallei* utilizando o teste de ELISA competitivo (cELISA), no qual observaram especificidade de 98.9% e concordância com o teste de fixação de complemento em 70%. Estes autores concluíram que esta técnica possui reprodução facilitada, objetiva e aplicável para o diagnóstico sorológico do mormo em animais submetidos ao trânsito internacional e em programas de erradicação da doença, possível de substituir a técnica de FC. Os pesquisadores ressaltaram que o uso de cELISA descarta os problemas associados a soros anticomplementares, além de ser uma técnica automatizada que permite resultado mais rápido e objetivo e reduz as falhas relacionadas às diluições, pois o soro pode ser testado sem diluição.

Naureen et al. (2007) desenvolveram um teste de rosa bengala em placa de aglutinação (RBT), o qual ainda não foi validado. O RBT pode ser utilizado nos casos de anergia ou casos avançados de mormo quando o teste da maleína apresentar resultados inconclusivos. Em vista da sua simplicidade, rapidez e fácil execução, o RBT tem potencial para ser utilizado como um teste complementar para o diagnóstico do mormo em condições de campo. Entretanto, como o antígeno não-purificado foi utilizado neste estudo e em estudos prévios, há necessidade de validar o teste utilizando antígenos purificados definidos (capsular ou lipopolissacarídeos) para minimizar a chance de reações falso-positivas, como observado na FC.

Naureen et al. (2007) também avaliaram o uso do Teste da Hemaglutinação Indireta (IHAT) e observaram uma alta sensibilidade em relação à FC. Os autores sugerem o uso simultâneo do IHAT a fim de ampliar a acurácia da FC, já que este teste pode falhar na detecção de muitos casos confirmados, principalmente, devido à atividade anticomplementar do soro de asininos e muares.

Atualmente, a Reação de Cadeia em Polimerase (PCR) é uma alternativa para o diagnóstico do mormo. Segundo Suppiah et al. (2010), a detecção de patógenos por métodos moleculares vem sendo usual devido à rápida identificação do agente e conclusão do diagnóstico, sendo importante, principalmente, em casos de doença clínica. Lee et al. (2005) utilizaram a PCR para diferenciar a *B. mallei* da *B. pseudomallei* e afirmam que a identificação das duas bactérias é importante pois ambas são consideradas agentes potenciais para o bioterrorismo.

Para a confirmação do diagnóstico em regiões onde a doença não é endêmica, em casos de animais com evidência clínica de mormo, sugere-se o cultivo bacteriano por punção aspirativa do conteúdo purulento de nódulos cutâneos fechados e *swabs* da mucosa nasal (MOTA, 2006). Segundo Silva et al. (2005), a prova de Strauss também é uma alternativa para a confirmação do diagnóstico do mormo em animais com sintomatologia clínica e afirma que o teste é bastante sensível para o diagnóstico.

CONCLUSÃO

Não foram observados animais positivos para mormo, nenhum animal apresentou sinais clínicos sugestivos da doença e observou-se que a enfermidade não é endêmica no DF. O serviço oficial deve manter vigilância ativa, visto que podem ser observados casos esporádicos da doença, devido ao fato da população estudada ser considerada de maior risco. Em relação aos muares, os resultados sugerem que o teste de FC tende a dar mais resultados falso-positivos nestes animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Instrução Normativa N° 24, de 5 de abril de 2004, da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em:

<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 24 de novembro de 2010. (b)

BRIDGET, C.G.; WAAG, D.M. Glanders. In: BORDEN INSTITUTE. Medical Aspects of Biological Warfare. p. 121-146, 2007.

CHAVES, D.P. 2009. Resultados do exame de mormo. Disponível em: <<http://www.cernitas.com.br/content/2009/12/resultados-do-exame-de-mormo/>>. Acesso em: 14 de jun. 2011.

GALYOV, E.E.; BRETT, P.J.; DESHAZER, D. Molecular insights into *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei* pathogenesis. Annual Review of Microbiology, v.64, p.495-517, 2010.

GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL (GDF). Dispõe sobre o trânsito de veículos de tração animal nas vias públicas urbanas e faixas de domínio das rodovias no Distrito Federal. Decreto n° 27.122, de 28 de agosto de 2006. Disponível em: <http://www.buriti.df.gov.br/ftp/diariooficial/2006/10_Outubro/DODF%20205%2025-10-2006/Seção01-%20205.pdf>. Acesso em: 19 de mai. 2011.

IBGE. Área Territorial Oficial. Resolução n° 05/2002. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/areaterritorial/principal.shtm>>. Acesso em: 21 de jun. 2011.

KATZ, J.; DEWALD, R.; NICHOLSON, J. Procedurally similar competitive immunoassay systems for the serodiagnosis of *Babesia equi*, *Babesia caballi*, *Trypanosoma equiperdum*, and *Burkholderia mallei* infection in horses. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v.12, p.46-50, 2000.

LEE, M.A.; WANG, D.; YAP, E.H. Detection and differentiation of *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei* and *Burkholderia thailandensis* by multiplex PCR. Federation of European Microbiological Societies Immunology and Medical Microbiology, v.43, p.413-417, 2005.

MOTA, R.A.; BRITO, M.F.; CASTRO, F.J.C.; MASSA, M. Mormo em equídeos nos estados de Pernambuco e Alagoas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 20, n.4, p.155-159, 2000.

MOTA, R.A. Aspectos etiopatológicos, epidemiológicos e clínicos do mormo. *Veterinária e Zootecnia*, v.13, n.2, p.117-124, 2006.

MOTA, R.A.; OLIVEIRA, A.A.F.; JUNIOR, W.P.; SILVA, L.B.G.; BRITO, M.F.; RABELO, S.S.A. Glanders in donkeys (*Equus asinus*) in the state of Pernambuco, Brasil: a case report. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.41, p.146-149, 2010.

NAUREEN, A.; SAQIB, M.; MUHAMMAD, G.; HUSSAIN, M.H.; ASI, M.N. Comparative evaluation of rose bengal plate agglutination test, mallein test, and some conventional serological tests for diagnosis of equine glanders. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.19, p.362-367, 2007.

NEUBAUER, H.; SPRAGUE, L.D.; ZACARIA, R.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; WEMERY, R.; WEMERY, U.; SCHOLZ, H.C. Serodiagnosis of *Burkholderia mallei* Infections in Horses: State-of-the-art and Perspectives. *The Journal of Veterinary Medicine*, v.52, n.5, p.201-205, 2005.

SANTOS, F.L.; FILHO, H.C.M.; MENDONÇA, C.L. Mormo. In: RIET, F.C.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R. J. Doenças de ruminantes e equídeos. 3º ed, v.1, Fernovi Editora, p.394-404, 2007.

SHELL, M.A.; ULRICH, R.L.; RIBOT, W.J.; BRUEGGEMANN, E.E.; HINES, H.B.; CHEN, D.; LIPSCOMB, L.; KIM, H.S.; MRÁZEC, J.; NIERMANW.C.; DESHAZER, D. Type VI secretion is a major virulence determinant in *Burkholderia mallei*. *Molecular Microbiology*, v.64, n.6, p.1466-1485, 2007.

SERGEANT, ESG, 2009. Epitools epidemiological calculators. AustVet Animal Health Services and Australian Biosecurity Cooperative Research. Disponível em: <<http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=home>>. Acesso em: 24 de nov. 2010.

SILVA, L.B.G; SILVA NETO, J.B.; BRITO, M,F.; MAIA, F.C.L.; SILVA JÚNIOR, V.A.; MOTA, R.A. Lesões anatomo-histopatológicas em cobaias

(*Cavia porcellus*), experimentalmente infectados pela *Burkholderia mallei*. Arquivos do Instituto Biológico, v.72, n.1, p.23-28, 2005.

SILVA, K.P.C.; MOTA, R.A.; CUNHA, A.P.; SILVA, L.B.G.; LEAL, N.C.L.; CAVALCANTE, Y.V.N.; TELES, J.A.A.; PEREIRA, M.C.C.; FREITAS, N.S. Caracterização fenotípica e molecular de amostras de *Burkholderia mallei* isoladas na Região Nordeste do Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.29, n.5, p.439-444, 2009.

SPRAGUE, L.D.; ZACHARIAH, R.; NEUBAUER, H.; WERNERY, R.; JOSEPH, M.; SCHOLZ, H.C.; WERNERY, U. Prevalence-dependent use of serological tests for diagnosing glanders in horses. BioMed Central Veterinary Research, v.5, n.32, 2009. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/5/32>>. Acesso em: 19 de mai. 2011.

SUPPIAH, J.; THIMMA, J.S.; CHEAH, S.H.; VADIVELU, J. Development and evaluation of polymerase chain reaction assay to detect *Burkholderia* genus and to differentiate the species in clinical specimens. Federation of European Microbiological Societies Immunology and Medical Microbiology, v.306, p.9-14, 2010.

WHITLOCK, G.C.; ESTES, D.M.; TORRE, A.G. Glanders: off to the races with *Burkholderia mallei*. Federation of European Microbiological Societies, p.115-122, 2007.

WORLD ANIMAL HEALTH INFORMATION DATABASE (WAHID). 2010. Glanders. Disponível em: <http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_immediate_summary&selected_year=2010>. Acesso em: 19 de mai. 2011.

CAPÍTULO III

PREVALÊNCIA DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA EM EQUÍDEOS DE TRACÇÃO DO DISTRITO FEDERAL

EQUINE INFECTIOUS ANEMIA PREVALENCE IN TRACTION EQUIDS FROM DISTRITO FEDERAL

RESUMO

A anemia infecciosa equina (AIE) é uma doença causada por um lentivirus que possui distribuição mundial. Essa enfermidade é um entrave ao desenvolvimento da equinocultura no Brasil, devido à obrigatoriedade de eutanásia dos animais positivos. Este trabalho teve como objetivo estimar a prevalência de AIE em equídeos de tração no Distrito Federal, assim como fatores de risco associados à doença. Foram sorteados aleatoriamente 350 proprietários e foram amostrados todos os equídeos de cada proprietário sorteado, totalizando 496 animais. As amostras foram analisadas no LANAGRO/MG por meio da técnica de imunodifusão em ágar gel (IDGA) e, no momento da coleta de sangue, foi aplicado um questionário epidemiológico para a análise de possíveis fatores de risco. A prevalência de AIE estimada para proprietários foi de 2,29% intervalo de confiança (IC) 95% = [1,01% - 4,2%] e, para animais, a prevalência foi de 1,81% intervalo de confiança (IC) 95% = [0,55% - 3,07%]. Não foi possível comprovar a presença de nenhum fator de risco associado à doença. Este estudo demonstra que a prevalência da AIE em equídeos de tração é baixa, o que justifica a eutanásia dos equídeos reagentes, com a finalidade de promover a erradicação

dessa enfermidade, ratificando a importância da realização de exames periódicos nesses animais pela SEAPA/DF.

Palavras-chave: Anemia infecciosa equina (AIE), equídeos de tração, prevalência, IDGA, DF.

ABSTRACT

The Equine Infectious Anemia (EIA) is a disease that has a world-wide distribution and it is caused by a lentivirus. This disease hampers the development of horse breeding in Brasil, mainly, because of the obligation to eliminate the test positive animals. In this context, the objective of this study was to estimate the prevalence of EIA in traction equids, in order to identify potential risk factors and epidemiology, analyzing the situation of this disease in Distrito Federal (DF). Three hundred and fifty (350) owners were randomly sampled and all equids from each random owner were sampled, totalizing 496 animals. The samples were analyzed in LANAGRO/MG using the agar gel immunodiffusion test (AGID) and, in the same time of the blood collect, it was applied an epidemiological questionnaire to analyze possible risk factors associated with the disease. The prevalence was estimated at 2.29% confidence interval (CI) 95% = [1.01% - 4.2%] for owners testing positive and 1.81% confidence interval (CI) 95% = [0.55% - 3.07%] for horses. None risk factor was associated to the disease. This study demonstrated that the prevalence of EIA in traction equids from DF is low, which justifies the elimination of test positive animals, in order to promote the eradication of this disease, improving the importance of submission of this animals to periodic tests by SEAPA/DF.

Keywords: Equine Infectious Anemia (EIA), traction equids, prevalence, AGID, DF.

INTRODUÇÃO

A anemia infecciosa equina (AIE), também conhecida como “Febre dos Pântanos”, é causada por um retrovírus, membro da família *Retroviridae*, subfamília *Lentivirinae* (RADOSTITS, 2000). O vírus da AIE tem distribuição mundial especialmente em regiões de clima tropical e subtropical, onde existe grande quantidade de vetores (KARAM et al., 2010). No Brasil, a doença é relatada desde 1952 (SILVA et al., 2001).

A transmissão da doença ocorre pela transferência de sangue e seus derivados, de equídeos infectados para animais sadios, sendo que os principais vetores do vírus são os insetos hematófagos, principalmente os tabanídeos (RADOSTITS, 2000). A transmissão também pode ocorrer pelo uso de agulhas, instrumentos cirúrgicos e utensílios contaminados, como freios e esporas (COETZER et al., 1994). Outras formas menos frequentes incluem as transmissões transplacentária, pelo colostro e sêmen (NOCITI et al., 2007).

A maioria dos animais infectados não demonstra nenhum sinal clínico da doença, porém, pode-se observar febre intermitente, trombocitopenia, anemia leve a moderada, anorexia, depressão, fraqueza, icterícia, edemas, petéquias nas mucosas e esplenomegalia. Equídeos que se recuperam da síndrome aguda podem desenvolver a síndrome subaguda ou crônica e os sinais clínicos são observados após situações estressantes ou após o uso de corticóides (CRAIGO et al., 2009).

Desde 1970, o teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), também conhecido como teste de Coggins, é utilizado no diagnóstico da AIE, por ser de fácil execução (ALVAREZ et al., 2007), apresentar sensibilidade de 98,8% e especificidade de 100% (COGGINS et al., 1972), sendo a única técnica prescrita, oficialmente, para o trânsito de equídeos (OIE, 2008). Não há tratamento eficaz e o controle da doença baseia-se na identificação e eutanásia dos positivos para saneamento do rebanho (LAGE et al., 2007). No Pantanal, a AIE é considerada endêmica devido à sua alta prevalência e é aceita uma estratégia alternativa de controle da doença baseada no isolamento dos animais positivos, visto que a eutanásia de todos os positivos seria inviável (SILVA et al., 2001).

.Segundo Almeida et al. (2006), as estatísticas oficiais apresentam um perfil da situação epidemiológica da AIE, porém não informam, com exatidão, a taxa de prevalência da enfermidade nos diferentes estados do país, uma vez que se referem, exclusivamente, aos exames laboratoriais realizados para o trânsito interestadual e/ou participação em eventos agropecuários controlados pelos serviços oficiais de defesa sanitária animal. A maior parte do efetivo testado pertence a rebanhos de alto valor zootécnico em que a doença está controlada e, muitas vezes, o mesmo animal é testado mais de uma vez em um curto período. Não há estudos de prevalência para que se possa estabelecer uma política sanitária adequada para o controle e futura erradicação da enfermidade.

No Distrito Federal, não há relatos da realização de inquérito sorológico para estimar a prevalência da AIE, há somente dados referentes ao número de exames realizados em laboratórios credenciados e número de casos positivos. De acordo com a tabela 1, observa-se que nos últimos três anos não houve grande variação da quantidade de equídeos positivos para AIE, provavelmente, devido a intensificação das medidas sanitárias de controle da doença, visto que o número de exames realizados se manteve constante. Entretanto, estes exames foram realizados devido às exigências da apresentação de exame laboratorial negativo para trânsito, sendo a maioria dos exames referentes a animais de alto valor zootécnico, que participam de eventos agropecuários com frequência, podendo o mesmo animal ter sido testado mais de uma vez no ano correspondente.

Tabela 1: Exames de AIE realizados no DF e número de animais positivos de 2004 a 2010.

Ano	Total de Exames	Focos	Animais Positivos	Animais Positivos (%)
2004	8.957	19	51	0,57
2005	11.910	123	137	0,91
2006	7.860	13	17	0,22
2007	10.108	40	41	0,41
2008	10.056	34	34	0,33
2009	10.522	20	20	0,19
2010	10.792	30	30	0,27

Observando-se a importância econômica e social da equídeocultura no Brasil e dos prejuízos causados pelas doenças que acometem os equídeos, principalmente, aquelas onde é obrigatória a eutanásia dos animais positivos, este trabalho teve como objetivo caracterizar a situação epidemiológica da anemia infecciosa equina em equídeos de tração do DF, estimando a prevalência desta doença e identificando possíveis fatores de risco associados a ela.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostragem

O estudo foi realizado no Distrito Federal que é a menor Unidade da Federação, ocupando uma área de 5.801, 937 km² (IBGE, 2002).

Como base de cadastro de proprietários de equídeos de tração do Distrito Federal foi utilizado o banco de dados de animais de tração da SEAPA-DF. Segundo o Decreto nº 27.122, de Agosto de 2006, compete a esta Secretaria, realizar a identificação eletrônica e emitir a licença para os animais utilizados nos veículos de tração. Devido a isso, a SEAPA/DF possui um banco de dados dos

equídeos destinados a este tipo de trabalho, no qual, há, atualmente, 1013 proprietários e 1447 equídeos cadastrados. Sabe-se que a população de proprietários de equídeos de tração é superior ao número cadastrado, portanto, para o cálculo da amostra, a população foi considerada quatro vezes maior que a população cadastrada para evitar perda de precisão amostral.

O número total de proprietários a serem amostrados foi determinado pela fórmula para amostras simples aleatórias, usando o programa Epi Tools® (SERGEANT, 2009). Os parâmetros adotados para o cálculo foram: nível de confiança de 0,95, prevalência estimada de 0,01, erro de 0,01 e população total de 4100. A capacidade operacional e financeira do serviço veterinário oficial também foi levada em consideração para a determinação do tamanho da amostra.

Dessa forma, foi realizada uma amostragem aleatória simples sistemática de 350 proprietários, distribuídos geograficamente de acordo com a população em cada uma das quatro regiões pré-definidas, de acordo com a localização dos escritórios da Diretoria de Defesa e Vigilância Sanitária da SEAPA-DF.

Cada proprietário foi considerado uma unidade primária de amostragem e todos os equídeos foram amostrados. Conforme demonstrado na tabela 2, foram amostrados 496 animais nas quatro regiões, representando cerca de 35% da população cadastrada.

Em alguns casos não foi possível localizar os proprietários sorteados e estes proprietários foram substituídos por outros encontrados no momento das coletas de sangue.

Tabela 2: Número de proprietários de equídeos de tração existentes e número de proprietários e animais amostrados por região.

N°	Região	Total de Proprietários	Proprietários Amostrados	Animais Amostrados
1	Brazlândia	549	181	264
2	Gama	169	68	99
3	Sobradinho	106	38	52
4	Planaltina	189	63	81
TOTAL		1013	350	496

Coleta de Material e Questionário Epidemiológico

O sangue foi coletado por meio de punção da veia jugular, utilizando agulha individual e tubos de colheita a vácuo sem anticoagulante, de cada animal foi colhida uma amostra de 4 mL de sangue. O soro foi separado por centrifugação, em centrífuga de ângulo fixo para tubos de 15 ml, durante 5 minutos a 2.500 rotações por minuto. O soro foi separado em duas amostras e transferido para microtubos plásticos de 1,5 – 2 ml por meio do uso de pipeta digital, identificado e congelado a -20°C . O processamento do sangue foi realizado no Laboratório de Anemia Infecciosa da SEAPA/DF.

O soro congelado foi encaminhado em caixas de embalagem tripla, com gelo reciclável, por meio de transporte aéreo para o Laboratório Nacional Agropecuário do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, localizado em Pedro Leopoldo, Minas Gerais – LANAGRO/MG, para realização do exame de imunodifusão em ágar gel para anemia infecciosa eqüina. A segunda amostra permaneceu congelada no Laboratório da SEAPA caso fosse necessário envio de outra amostra para o laboratório oficial.

Em cada propriedade amostrada, além da coleta de sangue para os testes diagnósticos, foi aplicado um questionário epidemiológico contendo os dados de cada proprietário e informações específicas de cada animal, para permitir a realização do estudo de possíveis fatores de risco associados à doença estudada, como espécie, idade e sexo dos animais; número de equídeos do proprietário; local onde o proprietário compra os animais; local onde os animais permanecem; utilização da mesma agulha para vários animais e periodicidade de realização de exames (Anexo I).

Método de Diagnóstico

O teste de imunodifusão em ágar gel (IDGA) foi o teste utilizado para o diagnóstico da doença, sendo esta técnica a única prescrita, oficialmente, para o

trânsito de equídeos pela Organização Mundial de Saúde Animal. As amostras foram analisada no LANAGRO/MG e todos os dados gerados nas coletas e testes laboratoriais foram inseridos em um banco de dados do Excel (Microsoft®) que foi posteriormente utilizado nas análises epidemiológicas.

Cálculo da Prevalência em Propriedades e Animais

Para o cálculo da prevalência em propriedades, considerou-se uma amostragem aleatória simples e, para o cálculo da prevalência em animais, uma amostragem de conglomerados em uma etapa. A propriedade foi declarada positiva quando havia pelo menos um animal positivo.

O cálculo do erro padrão e intervalo de confiança da estimativa da prevalência em propriedade foi baseado na fórmula para distribuição binomial exata, usando o programa STATA, versão 11.0.

Para o cálculo da prevalência em animais e respectivo erro padrão, também utilizou-se o programa STATA, levando em consideração que a amostragem foi feita por conglomerados.

A associação das variáveis do questionário epidemiológico (ANEXO I) com a presença da AIE foi expressa por meio do teste do qui-quadrado (X^2). Considerou-se que a associação não era devido ao acaso quando “p” resultou em um número menor ou igual a 0,05.

Não foi calculada a prevalência real, pois a prevalência aparente é uma ótima aproximação da real em virtude da alta sensibilidade e especificidade do teste de IDGA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Prevalência em Propriedades e Animais

A prevalência de AIE em propriedades de equídeos de tração do DF foi de 2,29%, com intervalo de confiança de 95% variando de 1,01% a 4,2%. A prevalência de AIE em animais foi de 1,81%, com intervalo de confiança de 95% variando de 0,55% a 3,07%.

Alguns estudos realizados no Brasil revelam a situação da doença em diferentes estados. Nociti et al. (2007) verificaram a ocorrência da AIE no estado do Mato Grosso calculando o percentual de animais positivos a partir do total examinado e observaram: no ano de 2004 - 6,83%; 2005 - 4,87%; 2006 - 4,71%; e 2007 - 3,87% de soros reagentes para a doença. Karam et al. (2010) observaram um aumento significativo no número de focos no Rio de Janeiro entre os anos 2002 a 2008 e atribuíram este aumento à intensificação das medidas de defesa sanitária realizadas em todo o estado. Heinemann et al. (2002) relataram uma prevalência de 17,71% de AIE em animais de serviço no município de Uruará, estado do Pará, e afirmaram que a região amazônica é ecologicamente propícia ao desenvolvimento de insetos hematófagos, os quais constituem fator de grande importância na determinação do grau de endemicidade da doença. Almeida et al. (2006) estimaram a prevalência da AIE em animais de serviço e observaram que a enfermidade é endêmica em MG, apresentando duas áreas epidemiologicamente distintas, sendo uma de prevalência alta ao norte e, outra, ao sul da primeira, de prevalência significativamente mais baixa. Fiorillo (2011) estimou a prevalência da AIE em haras de MG e verificou uma prevalência muito baixa, quando comparada à dos animais de serviço, entretanto, também verificou prevalência maior na região norte em relação ao centro e sul do estado. Em um estudo realizado pela Embrapa Pantanal (SILVA et al., 2001), foi observada prevalência de 18,2% em animais de serviço.

Portanto verificou-se que a prevalência encontrada no DF foi baixa, sendo a situação epidemiológica semelhante à observada no sul de MG para animais de

serviço. Entretanto, é importante ressaltar que o trabalho realizado no DF com os equídeos de tração mediante a realização de exames periódicos pela Diretoria de Defesa e Vigilância Sanitária da Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento é de extrema importância para o controle da doença, visto que os proprietários dos animais não estão dispostos e, frequentemente, não têm condições financeiras para contratar um veterinário para realizar os exames dos equídeos. Além disso, caso o controle da AIE em equídeos de tração não seja eficaz, as medidas de controle relacionadas a população de animais de maior valor zootécnico ficam comprometidas, visto que somente esta população seria submetida a eutanásia em caso de positividade. Inclusive, conforme observado na tabela 1, nos últimos três anos não houve grande variação da quantidade de equídeos positivos para AIE em exames realizados nos laboratórios credenciados, estes dados podem estar relacionados ao melhor controle da doença em equídeos de tração, pois as atividades relacionadas a esta população foram intensificadas a partir do ano de 2008, refletindo nos resultados relativamente constantes de positividade na população testada com maior frequência.

Apesar da oferta desse serviço sem oneração, muitas vezes os proprietários são resistentes em permitir que o serviço de defesa realize a coleta de sangue de seus animais devido ao conhecimento da obrigatoriedade da eutanásia do animal positivo. Como a maior parte dos equídeos não apresenta qualquer sinal clínico da doença e são capazes de trabalhar nas carroças mesmo quando infectados, muitos proprietários preferem permanecer com os animais sem realizar os exames, a fim de evitar que seu animal seja recolhido.

Análise de Fatores de Risco

Foram realizadas análises estatísticas para a identificação dos possíveis fatores de risco para AIE como espécie, idade e sexo dos animais; número de equídeos do proprietário; local onde o proprietário compra os animais; local onde

os animais permanecem; utilização da mesma agulha para vários animais e periodicidade de realização de exames (Tabela 3).

Não foi realizada uma análise multivariada dos dados em virtude da prevalência encontrada ter sido muito baixa, o que reduz muito o número de casos positivos associados a qualquer variável de risco. Também devido à esta baixa prevalência, alguns fatores de risco em potencial, contemplados no questionário, não puderam ser comprovados nesta análise.

As variáveis que caracterizam os animais (espécie, sexo e idade) foram avaliadas e submetidas à análises de correlação.

Em relação à espécie, foram amostrados 478 equinos e 18 muares, sendo que foram reagentes ao teste 1,46% (7) dos equinos e 11,11% (2) dos muares. Não foi observado nenhum asinino, pois esta espécie não é comumente utilizada como animal de tração no Distrito Federal. Ao realizar-se o cálculo do qui-quadrado, verificou-se haver associação entre os muares e a positividade para AIE ($p=0,003$), porém não foi possível justificar esta associação.

Em relação ao sexo, foram amostrados 302 machos e 194 fêmeas e não foi possível demonstrar associação entre positividade e sexo ($p=0,72$), portanto, a doença afetou machos e fêmeas na mesma magnitude, assim como observado por Fiorillo (2011).

Em relação à idade, foram criadas três categorias: equídeos jovens (até 4 anos), equídeos adultos (entre 5 e 10 anos) e equídeos idosos (acima de 10 anos). Observou-se que 69,96% (347) dos animais possuíam entre 5 e 10 anos. Também não foi possível afirmar que havia associação entre a idade e os casos positivos ($p=0,4$).

O cálculo do qui-quadrado também não foi significativo para o local onde os equídeos permaneciam ($p=0,98$) e nem para onde os proprietários adquiriam seus animais ($p=0,26$), apesar de ser esperado maior número de positivos para os que compram de comerciantes, verificou-se que a maioria adquiria seus equídeos de outros proprietários e todos os animais positivos encontravam-se neste grupo.

No presente estudo, foi observado que 79,14% (277) dos proprietários tinha conhecimento sobre a AIE e 79,42% (278) responderam que não utilizavam a mesma agulha para aplicação de medicamentos em seus animais. Apesar do conhecimento sobre a doença, apenas 9,72% (34) dos proprietários estavam com

os exames de seus animais dentro do prazo de validade, outros 41,14% (144) nunca haviam submetido os equídeos ao exame de AIE e o restante (49,14% - 172) estava com os exames fora do prazo de validade. Esses dados demonstram que os proprietários têm conhecimento sobre a doença e suas formas de transmissão, mas não reconhecem a importância da realização de testes periódicos dos animais. Isto se deve, principalmente, ao fato da não apresentação de sinais clínicos pelos equídeos soropositivos. Pois, assim como relatado por outros autores (CRAIGO et al., 2009; PIEREZAN, 2009; SILVA et al., 2001), nenhum equídeo soropositivo apresentou sinais clínicos de AIE.

Tabela 3: Resultados da análise univariada dos possíveis fatores de risco para AIE em equídeos de tração do DF.

Variável	p
Espécie	0,003
Sexo	0,72
Idade	0,4
Local onde os equídeos permanecem	0,98
Onde adquirem os animais	0,26
Conhecimento sobre a AIE	0,77
Utiliza a mesma agulha nos animais	0,75
Frequência de realização de exames	0,13

No DF, a prevalência da doença é baixa quando comparada com áreas endêmicas e se justifica a eutanásia dos equídeos após resultado positivo a fim de promover a erradicação dessa enfermidade. Entretanto, é necessário que se mantenha a realização de exames periódicos para que não haja aumento da prevalência da doença nesta população, que sejam eutanasiados todos os positivos e que haja um melhor controle do trânsito de equídeos de tração, visto que os proprietários têm o hábito de comprar animais não examinados provenientes do Entorno do DF, onde é desconhecida a distribuição da AIE.

CONCLUSÃO

A AIE está presente em equídeos de tração do DF, porém, em baixa prevalência. No DF, justifica-se a eutanásia dos equídeos após resultado positivo para AIE, com a finalidade de promover a erradicação dessa enfermidade. É necessário que haja melhor controle do trânsito de equídeos de tração, a fim de se reduzir a entrada de equídeos não examinados provenientes de áreas onde a prevalência da AIE é desconhecida.

O presente estudo é de extrema importância para o serviço oficial por fornecer subsídios para intensificar o controle da AIE, por meio do conhecimento da distribuição da doença no Distrito Federal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, V.M.A.; GONÇALVES, V.S.P.; MARTINS, M.F.; HADDAD, J.P.A.; DIAS, R.A.; LEITE.R.C.; REIS, J.K.P. Anemia infecciosa eqüina: prevalência em eqüídeos de serviço em Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.58, n.2, p.141-148, 2006.

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. *Veterinary Microbiology*, v.121, p. 344–351, 2007.

BRASIL. Instrução Normativa N° 45, de 15 de junho de 2004, da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consulta_rLegislacaoFederal>. Acesso em: 24 de novembro de 2010.

COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. *Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa*. vol.2. Oxford University Press. 1994. p.800-802.

COGGINS L., NORCROSS N.L., NUSBAUM S.R. Diagnosis of equine infectious anaemia by immunodifusion test. *Am. J. Vet. Res.*, 33, 11-18, 1972.

CRAIGO, J.K.; BARNES, S.; ZHANG, B.; COOK, S.; HOWE, L.; ISSEL, C.J.; MONTELARO, R.C. An EIAV field isolate reveals much higher levels of subtype variability than currently reported for the equine lentivirus family. *Retrovirology*, v.6, n.95, 2009.

FIORILLO, K. S. Prevalência de anemia infecciosa equina em haras de Minas Gerais. 2011. Dissertação (Programa de Mestrado em Saúde Animal) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL (GDF). Dispõe sobre o trânsito de veículos de tração animal nas vias públicas urbanas e faixas de domínio das rodovias no Distrito Federal. Decreto n° 27.122, de 28 de agosto de 2006.

Disponível em: <
http://www.buriti.df.gov.br/ftp/diariooficial/2006/10_Outubro/DODF%20205%2025-10-2006/Seção01-%20205.pdf>. Acesso em: 19 de mai. 2011.

HEINEMANN, M.B.; CORTEZ,A.; SOUZA, M.C.C.; GOTTI, T.; FERREIRA, F.; HOMEM, V.S.F.; FERREIRA NETO, J.S.; SOARES, R.M.; SAKAMOTO, S.M.; CUNHA, M.S.; RICHTZENHAIN, L.J. Soroprevalência da anemia infecciosa equina, da arterite viral dos eqüinos e do aborto viral eqüino no município de Uruará, PA, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.39, n.1, p. 50-53, 2002.

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*, v. 09, n. 9, p. 01 – 13, 2010.

LAGE, R.A.; QUEIROZ, J.P.A.F.; SOUSA, F.D.N.; AGRA, E.G.D.; IZABEL, M.A.; DIAS, R.V.C.D. Fatores de risco para a transmissão da anemia infecciosa eqüina, leptospirose, tétano e raiva em criatórios eqüestres e parques de vaquejada no município de Mossoró, RN. *Acta Veterinária Brasília*, v.1, n.3, p.84-88, 2007.

NOCITI, R.P.; NOCITI, D.L.P.; ROCHA, T.G.; AVILA, M.O.; SILVA, G.C.P. 2008. Prevalência da anemia infecciosa equina no estado do Mato Grosso de 2004 a 2007.

Disponível em: <
<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0630-3.pdf>>. Acesso em: 24 de nov. 2010.

OIE- Organização Mundial de Saúde Animal. *Terrestrial Manual*, chapter 2.5.6- Equine Infectious Anaemia, 2008.

PIEREZAN, F. Prevalência das doenças de eqüinos no Rio Grande do Sul. 2009. Dissertação (Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Rurais, Universidade de Santa Maria, Santa Maria.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Veterinary Medicine – A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 9 ed. WB Saunders Company. 2000. p. 1032-1036.

SERGEANT, ESG, 2009. Epitools epidemiological calculators. AustVet Animal Health Services and Australian Biosecurity Cooperative Research. Disponível em: <<http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=home>>. Acesso em: 24 de nov. 2010.

SILVA, R.A.M.S.; ABREU, U.G.P.; BARROS, A.T.M. Anemia Infeciosa Equina: Epizootiologia, Prevenção e Controle no Pantanal. Circular Técnica nº 29. EMBRAPA PANTANAL, 2001.

CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo é de extrema importância para o serviço veterinário oficial, visto que era desconhecida a distribuição dessas doenças devido ao fato de nunca terem sido realizados estudos de prevalência de mormo e AIE no Distrito Federal.

Este trabalho permite avaliar a real situação dessas doenças no DF e fornece subsídios para confirmar que o caso de mormo foi um caso isolado e para verificar a eficiência dos trabalhos de prevenção e erradicação da AIE.

Portanto, concluiu-se que ambas as doenças estão controladas na população de equídeos de tração, porém, o serviço oficial deve manter a vigilância ativa a fim de evitar novos focos de mormo e não deve medir esforços para reduzir a prevalência da AIE no DF por meio da exigência de exames periódicos dos animais e melhor controle da entrada de equídeos provenientes de áreas onde é desconhecida a prevalência da AIE.

ANEXO I – QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL – GDF
SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - SEAPA
 DIRETORIA DE DEFESA E VIGILÂNCIA SANITÁRIA - DDV



Inquérito Sorológico para AIE e Mormo							
Dados do Proprietário							
Nome:							
CPF:		Telefone:			RG:		
Dados da Propriedade							
Endereço:							
Região:		Coordenadas: S:			W:		
Questionário							
1- Número total de equídeos que possui: _____							
2- Espécie: () Equino () Muar () Asinino							
3- Local onde compra equídeos: () Comerciantes () Outros proprietários							
4- Local onde os equídeos permanecem: () Curral comunitário () Chácara () Casa							
5- Já ouviu falar em Anemia Infecciosa Equina? () Sim () Não							
6- Quando aplica medicamentos ou vacina utiliza a mesma agulha? () Sim () Não							
7- Há quanto tempo realizou exame dos animais? () 60 dias () Mais de um ano () Nunca							
8- Já ouviu falar em Mormo? () Sim () Não							
9- Já houve algum caso de catarro recorrente em equídeos na propriedade? () Sim () Não							
10- Se respondeu sim na pergunta anterior, em que ano ocorreu o último caso: _____							
Nº de ordem	Nome do animal	Idade (anos)	Sexo (M ou F)	Espécie			Secreção Nasal Purulenta
				Equino	Asinino	Muar	
01							() Sim () Não
02							() Sim () Não
03							() Sim () Não
04							() Sim () Não
05							() Sim () Não
06							() Sim () Não
07							() Sim () Não
08							() Sim () Não
09							() Sim () Não
10							() Sim () Não