



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL – P.G.C.A.T.**

**SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DAS INFECÇÕES POR *Brucella* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii* EM EQUÍDEOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO**

**RUY BRAYNER DE OLIVEIRA FILHO**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal Tropical.

Orientador:

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior

Co-orientadores:

Prof. Dr. Danilo Tancler Stipp

Dr<sup>a</sup>. Vania Lucia de Assis Santana

**RECIFE**

**2012**

Ficha catalográfica

O48s Oliveira Filho, Ruy Brayner de  
Situação epidemiológica das infecções por *Brucella* spp.,  
*Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii* em equídeos na  
microrregião do Brejo Paraibano / Ruy Brayner de Oliveira  
Filho. -- Recife, 2012.  
133 f. : il.

Orientador: José Wilton Pinheiro Júnior.  
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) –  
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento  
de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2012.  
Inclui referências, apêndice e anexo.

1. Fatores de risco 2. Brucelose 3. Leptospirose  
4. Toxoplasmose 5. Sorologia 6. Paraíba I. Pinheiro Júnior,  
José Wilton, orientador II. Título

CDD 636.089

Dissertação à disposição na Biblioteca Central da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas as normas de ética científica.

## **DEDICATÓRIA**

À minha esposa, Karla Campos Malta, pelo amor, carinho, compreensão e pela grande  
companheira que tem sido.

Aos meus pais, Ruy Brayner de Oliveira e Amélia Maria Madruga de Oliveira, pelo  
amor, incentivo e constante apoio que têm me dado todos esses anos.

Ao meu irmão, Antonio Coutinho Madruga Neto.

E também a todos os meus familiares.

## AGRADECIMENTOS

A Karla Campos Malta, que me ajudou nas coletas das amostras, e sempre me deu sugestões que auxiliaram o trabalho.

Ao meu orientador, José Wilton Pinheiro Júnior, por estar sempre disponível para tirar dúvidas e ajudar em todas as fases desse trabalho.

A todos do Setor de Bacteriologia do Laboratório Nacional Agropecuário em Pernambuco (Dr<sup>a</sup>. Vania, Dr<sup>a</sup>. Marcília, Dr<sup>a</sup>. Mabel, Dr<sup>a</sup> Andréa, Luiz, Solange, entre outros) pela ajuda no processamento das amostras para diagnóstico de leptospirose.

Ao professor Rinaldo Aparecido Mota, por ter cedido o seu laboratório para a realização dos testes para diagnóstico de brucelose e toxoplasmose.

Ao professor Leucio Câmara Alves, por todo auxílio no que diz respeito a geoprocessamento.

A Pedro Paulo Feitosa Albuquerque, pela colaboração no processamento das amostras para o diagnóstico da toxoplasmose.

A Júnior Mário Baltazar de Oliveira, pela colaboração na execução da análise estatística dos resultados.

E a todos que de alguma forma colaboraram na realização deste trabalho.



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL – P.G.C.A.T.**

**SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DAS INFECÇÕES POR *Brucella* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii* EM EQUÍDEOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO**

**RUY BRAYNER DE OLIVEIRA FILHO**

**RECIFE**

**2012**

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>BRUCELOSE</b>	<b>14</b>
2.1.1	Etiologia	14
2.1.2	Epidemiologia	14
2.1.3	Patogenia	18
2.1.4	Sinais Clínicos	20
2.1.5	Diagnóstico	21
2.1.6	Controle e profilaxia	23
2.1.7	Aspecto zoonótico	23
<b>2.2</b>	<b>LEPTOSPIROSE</b>	<b>24</b>
2.2.1	Etiologia	24
2.2.2	Epidemiologia	25
2.2.3	Patogenia	28
2.2.4	Sinais clínicos	29
2.2.5	Diagnóstico	30
2.2.6	Controle e profilaxia	32
2.2.7	Tratamento	33
2.2.8	Aspecto zoonótico	33
<b>2.3</b>	<b>TOXOPLASMOSE</b>	<b>34</b>
2.3.1	Etiologia	34
2.3.2	Epidemiologia	34
2.3.3	Patogenia	37
2.3.4	Sinais Clínicos	38
2.3.5	Diagnóstico	39
2.3.6	Controle	40
2.3.7	Aspecto zoonótico	40
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>42</b>
3.1	Geral	42
3.2	Específicos	42
<b>4</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>ARTIGOS CIENTÍFICOS</b>	<b>56</b>

5.1	ARTIGO 1 - ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA INFECÇÃO POR <i>Leptospira</i> spp. EM EQUÍDEOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO, BRASIL	56
5.2	ARTIGO 2 - PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR <i>Brucella</i> spp. EM EQUÍDEOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO	73
5.3	ARTIGO 3 - SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA INFECÇÃO POR <i>Toxoplasma gondii</i> EM EQUÍDEOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO	86
6	CONCLUSÃO	96
	APÊNDICES	97
	ANEXOS	103

## LISTA DE FIGURAS

### Artigo 1

- Fig. 1. Distribuição e prevalência da infecção por *Leptospira* spp. nas propriedades amostradas. 69
- Fig. 2. Distribuição dos sorovares de *Leptospira* spp. nas propriedades com equídeos positivas no Brejo Paraibano. 70
- Fig. 3. Precipitação pluviométrica nos municípios e prevalência da infecção por *Leptospira* spp. nas propriedades. 71
- Fig. 4. Kernel da prevalência da infecção por *Leptospira* spp. no Brejo Paraibano. 72

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

### Revisão de literatura

Tabela 1 – Registros da infecção por <i>Brucella</i> spp. em equídeos no Brasil	16
Tabela 2 – Registros da prevalência da infecção por <i>Leptospira</i> spp. e sorovares predominantes, por estados, no Brasil	26
Tabela 3 – Registros da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> no Brasil	36

### Artigos Científicos

#### Artigo 1

Tabela 1 - Distribuição dos sorovares de <i>Leptospira</i> spp. em equídeos procedentes do Brejo Paraibano	65
Tabela 2 - Sorovares de <i>Leptospira</i> spp. prevalentes nas propriedades (reagentes em relação ao total de propriedades) amostradas na microrregião do Brejo Paraibano no período de julho a dezembro de 2011	66
Tabela 3 - Análise univariada dos fatores de risco associados à infecção por <i>Leptospira</i> spp. em equídeos no Brejo Paraibano	67
Tabela 4 - Análise univariada dos fatores de risco (biosseguridade) associados à infecção por <i>Leptospira</i> spp. em equídeos no Brejo Paraibano	68

#### Artigo 3

Quadro 1. Frequência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> e titulação em equídeos, na microrregião do Brejo Paraibano	93
Quadro 2. Análise univariada dos fatores de risco (dados individuais e de rebanho) associados à infecção por <i>T. gondii</i> em equídeos no Brejo Paraibano	94
Quadro 3. Análise univariada dos fatores de risco (biosseguridade) associados à infecção por <i>T. gondii</i> em equídeos no Brejo Paraibano	95
Quadro 4. Regressão logística dos fatores de risco associados à infecção por <i>T. gondii</i> em equídeos no Brejo Paraibano	95

**Resumo** - Objetivou-se com este estudo caracterizar a situação epidemiológica das infecções por *Brucella* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano, região Nordeste do Brasil. Anticorpos contra esses agentes foram pesquisados em 257 amostras de equídeos (204 equinos, 46 muares e sete asininos) em 26 propriedades. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Brucella* spp., utilizou-se o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT). Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp., utilizou-se a Soroaglutinação Microscópica (SAM), empregando 24 sorovares patogênicos de *Leptospira* spp. como antígenos, e um ponto de corte de 1:100. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *T. gondii* utilizou-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e um ponto de corte de 1:64. Em relação à *Brucella* spp., nenhuma amostra foi reagente ao AAT. O número de focos da infecção por *Leptospira* spp. encontrado foi de 76,9%. A prevalência da infecção para *Leptospira* spp. foi de 15,9% (I.C. 11,7 - 1,0). O número de focos da infecção por *T. gondii* encontrado foi de 46,1%. Nas amostras analisadas, a prevalência geral da infecção por *T. gondii* foi de 7,8% (I.C. 4,8 - 8,8). Em relação às espécies observou-se uma prevalência da infecção por *Leptospira* spp. de 16,2% (equinos), 13,0% (muares) e 28,6% (asininos). A prevalência da infecção por *T. gondii* foi de 8,3% (I.C. 4,9 - 13,0) para os equinos, 2,2% (I.C. 0,1 - 11,5) para os muares e 28,6% (I.C. 3,7 - 71,0) entre os asininos. Em relação à infecção para *Leptospira* spp., na análise dos fatores de risco pela regressão logística identificou-se como fator de proteção a variável idade, onde os animais com idade entre 2,5 e 11 anos tiveram risco de infecção 0,4 vezes menor do que aqueles com menos de 2,5 anos (OR 0,4; I.C. 0,18 - 0,90). Em relação à infecção por *T. gondii*, na regressão logística das variáveis observou-se que a fonte de água foi um fator de risco, pois naquelas propriedades que forneciam água corrente para os animais o risco de infecção foi 4,4 vezes maior do que naquelas propriedades que forneciam água parada (OR 4,4; I.C. 1,0 - 19,0). Este é o primeiro estudo epidemiológico na microrregião do Brejo Paraibano a analisar as infecções por *Brucella* spp., *Leptospira* spp. e *T. gondii* em equídeos. Para diminuir os riscos de infecção, deve-se fornecer aos animais uma água de boa qualidade, bem como evitar acesso de gatos, roedores e outros animais a fontes de água e instalações onde os animais são mantidos. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que os animais estão expostos a fontes de infecção de *Leptospira* spp. e *T. gondii*, sendo encontrado um elevado número de focos o que indica uma ampla distribuição na microrregião. Os cuidados sanitários devem ser reforçados, principalmente em propriedades com maior quantidade de animais.

Palavras-chave: fatores de risco, brucelose, leptospirose, toxoplasmose, sorologia, Paraíba.

**Abstract** - The objective of this study was to characterize the epidemiological situation of infection by *Brucella* spp., *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* in equids in Brejo Paraibano microregion, Northeastern Brazil. Antibodies against these agents were investigated in 257 samples from equids (204 horses, 46 mules and seven donkeys) in 26 properties. For serological diagnosis of infection by *Brucella* spp., Rose Bengal Test (RBT) was used. For serological diagnosis of *Leptospira* spp. Infection, it was used the Microscopic Agglutination Test (MAT), using 24 pathogenic serovars of *Leptospira* spp. as antigens, and a cut-off of 1:100. For serological diagnosis of infection by *T. gondii*, it was used the Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) and a cut-off of 1:64. Regarding *Brucella* spp., no sample was positive in RBT. The number of foci of infection by *Leptospira* spp. found was 76.9%. The prevalence of infection for *Leptospira* spp. was 15.9% (C.I. 11.7-21.0). The number of foci of infection by *T. gondii* was found to be 46.1%. In the samples analyzed, the overall prevalence of infection by *T. gondii* was 7.8% (C.I. 4.8-8.8). Regarding species, it was observed a prevalence of *Leptospira* spp. infection of 16.2% (horses), 13.0% (mules) and 28.6% (donkeys). The prevalence of infection by *T. gondii* was 8.3% (C.I. 4.9-13.0) for horses, 2.2% (C.I. 0.1-11.5) for mules and 28.6% (C.I. 3.7-71.0) among donkeys. Regarding infection for *Leptospira* spp., age was identified as a protective factor, where animals aged between 2.5 and 11 years had a risk of infection 0.4 times lower than those with less than 2.5 years (OR 0.4; C.I. 0.18-0.90). In relation to *T. gondii*, in logistic regression of variables, it was observed that the water source was a risk factor, because in those properties that supplied running water to the animals the risk of infection was 4.4 times higher than in those properties that provided standing water (OR 4.4; C.I. 1.0-19.0). This is the first epidemiological study in Brejo Paraibano microregion that analyzed infections by *Brucella* spp., *Leptospira* spp. and *T. gondii* in equids. To reduce the risk of infection, good quality water should be given to the animals, as well as access of cats, rodents and other animals to water sources and facilities where animals are kept must be avoided. Based on the results, it is concluded that the animals are exposed to sources of infection of *Leptospira* spp. and *T. gondii*, and a high number of outbreaks has been found widely distributed in the microregion. Health care should be reinforced especially in properties with more animals.

**Keywords:** risk factors, brucellosis, leptospirosis, toxoplasmosis, serology, Paraiba.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho de equinos na América Latina e o terceiro mundial. Somados aos muares (mulas) e asininos (asnos) são 8 milhões de cabeças, movimentando R\$ 7,3 bilhões, somente com a produção de cavalos. O rebanho envolve mais de 30 segmentos, distribuídos entre insumos, criação e destinação final e compõe a base do chamado Complexo do Agronegócio Cavalo, responsável pela geração de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (BRASIL, 2012).

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. Usado unicamente como meio de transporte durante muitos anos, os equídeos têm conquistado outras áreas de atuação, com forte tendência para lazer, esportes e terapia. Uma de suas principais funções, contudo, continua sendo o trabalho diário nas atividades agropecuárias (BRASIL, 2012).

Na microrregião do Brejo Paraibano, a equideocultura assume grande importância, pois os equídeos são utilizados em diversas atividades: prática de esportes equestres, principalmente a vaquejada; transporte de cargas, principalmente de cana-de-açúcar, tendo em vista a tradição dos engenhos produtores de cachaça e rapadura desta microrregião; manejo de outras espécies; reprodução e lazer.

A brucelose é uma doença crônica que, muito embora seja mais frequente e grave nos bovinos, pode acometer também os equinos (THOMASSIAN, 2005). Em equídeos a brucelose também é conhecida como mal-da-nuca, abscesso de cernelha e fístula de cernelha. Segundo Arruda et al. (2010), a doença também é conhecida popularmente por “Jerimum”. Nessas espécies é causada quase que exclusivamente pela *Brucella abortus* e, eventualmente, pela *Brucella suis*, que invade o organismo do animal pela via digestória com alimentos, água e fômites contaminados por líquidos e restos de abortos de bovinos e, ocasionalmente, de outros cavalos infectados (THOMASSIAN, 2005).

A importância da brucelose animal varia de um país a outro, dependendo da população animal exposta, da espécie de *Brucella* envolvida e das medidas tomadas para combatê-la (MATHIAS; COSTA, 2007). Países livres da brucelose tiveram reintroduções associadas com movimento de animais pecuários infectados (CUTLER et al., 2010).

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

A leptospirose é uma zoonose que ocorre em diversas espécies animais, como bovinos, suínos, equinos, cães, roedores, animais silvestres e seres humanos. Está distribuída por todo o mundo, mas alguns sorovares de *Leptospira* spp. são encontrados com maior frequência em determinada área geográfica ou em certas espécies animais (OLIVEIRA; PIRES NETO, 2004).

Diversos animais vertebrados podem hospedar as leptospirosas, todavia os mamíferos domésticos são os que possuem maior significado epidemiológico. Nos ambientes urbanos os principais reservatórios são os roedores, pois abrigam as leptospirosas, as eliminam no ambiente pela urina e não apresentam sinais clínicos (CHIARELI, 2007).

As principais manifestações clínicas nos animais de produção estão relacionadas a problemas reprodutivos, como abortamento no final da gestação, problemas de infertilidade e nascimento de animais debilitados (CHIARELI, 2007). Em equídeos pode causar uveíte (FABER et al., 2000; HARTSKEERL et al., 2004; BRANDES et al., 2007), aborto e natimortos (DONAHUE et al., 1991; PESCADOR et al., 2004). Raramente ocorre febre, anorexia, depressão e icterícia (CHIARELI, 2007).

*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório que infecta a maioria das espécies de animais de sangue quente, incluindo as aves e o homem, na maior parte do mundo (FRASER, 1996). A toxoplasmose é uma doença importante pelos danos reprodutivos em várias espécies de animais, principalmente nos humanos (FIALHO et al., 2009).

Em equinos, este parasito está associado com quadros de encefalomielite (BOUGHATTAS et al., 2011). No entanto, a infecção por *T. gondii* em equinos geralmente é inaparente, sendo caracterizada pela manutenção de títulos de anticorpos e presença de cistos teciduais (LANGONI et al., 2007), progredindo subclínicamente (AKCA et al., 2004; ALANAZI; ALYOUSIF, 2011). Os cistos são encontrados nas vísceras, no cérebro, músculos esqueléticos e cardíaco (FORTES, 2004).

A Brucelose, Leptospirose e Toxoplasmose em equídeos são enfermidades de grande importância, pois podem causar diversas manifestações clínicas nos equídeos, e conseqüentemente um impacto negativo na produção, além de que, esses animais podem ser considerados como fonte de infecção para *Brucella abortus*, diferentes sorovares de *Leptospira interrogans* ou *Toxoplasma gondii* para outras espécies em criações consorciadas. Por possuírem caráter zoonótico, geram também preocupações no âmbito da saúde pública. Por isso, e em função de o Brasil apresentar o maior rebanho de equinos da América Latina, e devido à limitação no conhecimento atual sobre essas infecções no Brejo Paraibano, se faz necessário conhecer a situação epidemiológica dessas infecções, para que se possam adotar as devidas medidas de controle e erradicação.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 BRUCELOSE**

#### **2.1.1 Etiologia**

As bactérias do gênero *Brucella* são parasitas intracelulares facultativos, com morfologia de cocobacilos Gram-negativos, imóveis; podem se apresentar em cultivos primários com morfologia colonial lisa ou rugosa (rugosa estrita ou mucóide). Esta morfologia está diretamente associada à composição bioquímica do lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular, e para algumas espécies tem relação com a virulência. O LPS de bactérias gram-negativas é composto de um lipídio A hidrofóbico ligado a um núcleo oligossacarídico densamente compacto associado (LPS liso) ou não (LPS rugoso) com uma cadeia de polissacarídeos O hidrofílica (cadeia O) (LAPAQUE et al., 2005). Atualmente este gênero possui dez espécies reconhecidas: *Brucella abortus*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. inopinata*, *B. melitensis*, *B. microti*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. pinnipedialis* e *B. suis* (GODFROID et al., 2011).

O equino é susceptível à infecção experimental por *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*; o agente mais comum nessa espécie é a *B. abortus* seguida da *B. suis* (MATHIAS; COSTA, 2007). São conhecidas sete biovariedades de *Brucella abortus* (GODFROID et al., 2011). Em cavalos, *Brucella abortus* biovars 1, 2 e 4 foi isolada nos Estados Unidos, e o biovar 1 no Brasil, Colômbia e Austrália (CRAWFORD et al., 2000). Ocholi et al. (2004b) isolaram *Brucella abortus* biovar 1. Cvetnic et al. (2005) relatam o isolamento de *B. suis* biovar 3 de equinos na Croácia.

As bactérias do gênero *Brucella*, apesar de permanecerem no ambiente, não se multiplicam nele; são medianamente sensíveis aos fatores ambientais. Entretanto, a resistência diminui quando aumentam a temperatura e a luz solar direta ou com diminuição da umidade (BRASIL, 2006). Podem sobreviver por diversos dias no solo e nas fezes (COSTA, 2008). O micro-organismo pode sobreviver no pasto por períodos variáveis de acordo com as condições ambientais. É sensível ao calor, luz solar e a desinfetantes comuns, mas o congelamento permite uma sobrevivência quase indefinida. A atividade de vários desinfetantes contra *B. abortus* foi examinada, e representantes dos grupos de desinfetantes dos fenólicos, halogênios, amônio quaternários e aldeídos a concentrações de 0,5 ou 1%, na ausência de soro, geralmente inibiram uma alta concentração do micro-organismo (RADOSTITS et al., 2000).

#### **2.1.2 Epidemiologia**

Apesar desta doença e os seus meios de transmissão terem sido descobertos há mais de 100 anos, continua sendo um problema em todo o mundo, predominantemente em países em

desenvolvimento (MANTUR; AMARNATH, 2008). Göz et al. (2007) testaram 74 amostras de soro de equinos da cidade de Hakkari, leste da Turquia, utilizando o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o teste de aglutinação lenta em tubos (SAT), e apenas 9,5% dos animais foram positivos. Tzaneva et al. (2009) não encontraram equídeos positivos na Bulgária, utilizando o AAT e o Teste de Fixação do Complemento (TFC). Tel et al. (2011), em duas províncias do sudeste da Turquia, encontraram 13,7% e 6,1% de equinos e asininos positivos ao AAT, respectivamente.

No Egito, estudo com o teste de aglutinação em tubos determinou prevalência de 20,6; 5,9 e 71,4% em asininos, equinos e muares, respectivamente (REFAI, 2002). Ehizibolo et al. (2011) utilizaram o AAT para determinar a prevalência sorológica de *B. abortus* entre 75 equinos de três estábulos em dois estados do norte da Nigéria, e encontraram 14,7% de animais positivos.

Abo-Shehada (2009), na Jordânia, usando o AAT e o TFC como confirmatório, encontraram uma prevalência de 1,0% em equinos e 8,5% em asininos. Wadood et al. (2009), no Paquistão, utilizando o AAT e o SAT, encontraram prevalência de 17,7%. Tahamtan et al. (2010), no Iran, utilizando o AAT e o teste de aglutinação em tubos pelo 2-mercaptoetanol (2-ME), encontraram prevalência de 2,5% nos dois testes.

Acosta-González et al. (2006), no México, utilizando o AAT e o Teste do Rivanol (TR) como confirmatório, encontraram uma prevalência de 0,2%. Estudo realizado na Colômbia não detectou equídeos positivos no departamento de Caldas (ARICAPA et al., 2008). Lucero et al. (2008), em análise retrospectiva de 1968 a 1991, relatam o isolamento em cavalos de uma amostra de *Brucella* na Argentina (11,1%), três no Brasil (33,3%) e cinco em Cuba (55,6%). Dessas nove amostras, quatro eram de *B. abortus* e cinco de *B. suis*.

No Brasil, Pacheco (1945) relatou a presença de 88,0% de equinos reagentes. Langenegger e Szechy (1961), em equídeos expostos ao contato com bovinos de rebanhos infectados com *Brucella* spp., realizaram diagnóstico sorológico pela reação de soro-aglutinação, método rápido da placa, e soros com reações inferiores ao título de 1: 100 foram retestados pela prova lenta. Os autores verificaram que apenas 2,6% dos animais reagiram com títulos iguais ou superiores a 1:100, e 5,2% apresentaram reação suspeita com título de 1:50. Já em rebanho de 40 éguas que não foram expostas ao contato com bovinos, não foi encontrado nenhum animal reagente para brucelose.

Portugal et al. (1971), em São Paulo, detectaram 67,7% de equídeos reagentes com títulos elevados. Em estudo realizado em sete municípios goianos por Jardim et al. (1978a), a porcentagem de equinos com soroaglutinação positiva para brucelose variou de 0 a 3%, com

média de 1,3%. Outros estudos realizados no Brasil estão descritos na Tabela 1, a maioria sendo realizados apenas com equinos.

Tabela 1 – Registros da infecção por *Brucella* spp. em equídeos no Brasil

<b>Autor</b>	<b>Ano</b>	<b>Estado</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>Teste realizado</b>	<b>Espécies</b>
HIPÓLITO et al.	1943	Minas Gerais	6,7	SAR	Equídeos
CALDAS et al.	1963	São Paulo	0,8	SAL	Equinos
OLIVEIRA et al.	1973	Rio Grande do Sul	3,2	2-ME e TR	Equinos
GODOY; BARG	1976	Minas Gerais	2,5	SAR	Equinos
VIANA et al.	1981	Minas Gerais	0,4	SAR	Equinos
			0,2	TC	
FEITOSA et al.	1991	São Paulo	1,2	SAR	Equinos
			16,8	SAL	
			12,6	TC	
LANGONI; SILVA	1997	São Paulo	0,8	SAL	Equinos e
			-	2-ME	asininos
AGUIAR et al.	2008	Rondônia	3,4	2-ME	Equinos e
					muare
CARRAZZA et al.	2008	Minas Gerais	2,1	AAT	Equinos
STARK et al.	2008	Rio Grande do Sul	-	2-ME	Equinos
ARAUJO et al.	2009	Minas Gerais	-	2-ME	Equinos,
					muare e
					asininos
ANTUNES et al.	2010	Paraná	0,9	2-ME	Equinos
ARRUDA et al.	2010	Paraíba	0,6	FC	Equinos
CARRAZZA et al.	2010	Minas Gerais	-	FC	Equinos
ARRUDA et al.	2012	Paraíba	0,6	FC	Equinos

Convenções: SAR – Soroaglutinação Rápida; SAL – Soroaglutinação Lenta; TC – Teste do Cartão; 2-ME – 2-mercaptoetanol; TR – Teste do Rivanol; AAT – Antígeno Acidificado Tamponado; FC – Fixação do Complemento

Os equinos usualmente são considerados hospedeiros acidentais e terminais de *B. abortus*, de importância relativa na cadeia epidemiológica de transmissão intra ou entre-plantéis de equinos e para outras espécies. No entanto, na presença de fístula de cernelha, o conteúdo do exsudato é altamente rico em brucelas viáveis, e isso deve ser levado em consideração como fator de contaminação ambiental para outras espécies domésticas, assim como para a infecção humana (RIBEIRO et al., 2003).

Abortos em equinos ocasionados por este agente também podem ser considerados como uma potencial fonte de infecção para bovinos (CRAWFORD et al., 2000). Também foi observada a excreção de *Brucella abortus* no sêmen de um garanhão (BLOOD et al., 1992 citados por PANIAGUA, 2002).

A principal fonte de infecção da *Brucella abortus* é o bovino ou o bubalino, embora outras espécies de animais possam funcionar como reservatórios secundários, como equídeos, caprinos, caninos e animais silvestres (COSTA, 2008). A presença dos reservatórios silvestres, a cohabitação de espécies animais e a resistência do micro-organismo em condições adversas no ambiente são fatores que favorecem a manutenção do agente no ambiente e em criatórios de animais domésticos, inviabilizando, por vezes, sua erradicação em determinadas regiões ou países (POESTER et al., 2002). Os reservatórios naturais, representados pelos ungulados silvestres, desempenham papel importante na epidemiologia da doença, pois funcionam como mantenedores do agente no ambiente não modificado pelo homem (PAULIN, 2003).

Normalmente os equinos se infectam devido ao contato com bovinos ou suínos infectados (MATHIAS; COSTA, 2007; THOMASSIAN, 2005). Amaral e Silva (2010) relataram dois casos de brucelose em equinos criados juntos com rebanho bovino brucélico. A mesma situação foi encontrada por Brazil et al. (2008). Ocholi et al. (2004a) relataram evidência sorológica de infecção por *B. abortus* em quatro equinos pastando no mesmo piquete que bovinos positivos para brucelose. Em trabalho realizado por Silva et al. (2001), verificou-se que 84,2% dos equinos soropositivos eram criados nos mesmos pastos dos bovinos infectados. Pode ocorrer um surto de brucelose em bovinos após o contato com cavalos com bursite fistulada (FRASER, 1996).

Acredita-se que os equinos criados em áreas enzoóticas sejam mais suscetíveis à *Brucella* spp. e a manifestações de fístula de cernelha (ZICKER, 2006). Abrasões e feridas também podem funcionar como portas de entrada para o agente (DENNY, 1973). No entanto, os cavalos parecem ser mais resistentes à infecção do que bovinos, suínos e caprinos (TAHAMTAN et al., 2010).

### 2.1.3 Patogenia

A bactéria penetra no organismo pelas mucosas oral, nasofaríngea, conjuntival ou genital ou pelo contato direto com a pele (MATHIAS; COSTA, 2007). Após a penetração, as brucelas se multiplicam, são fagocitadas (BRASIL, 2006) e levadas aos linfonodos regionais (MATHIAS; COSTA, 2007). Uma das características da infecção por *Brucella* spp. é o fato da bactéria poder resistir aos mecanismos de destruição das células fagocitárias e sobreviver dentro de macrófagos por longos períodos. Essa localização intracelular é um dos mecanismos de evasão do sistema imune, porque protege as brucelas da ação do sistema complemento e de anticorpos específicos (BRASIL, 2006), e de antibióticos circulantes (COSTA, 2008). A resistência à lise intracelular é dependente da espécie de *Brucella* e, também, da espécie do hospedeiro (MATHIAS; COSTA, 2007). As amostras lisas têm maior capacidade de sobreviver e se multiplicar no interior de macrófagos e neutrófilos, estando esta habilidade relacionada com a capacidade de evitar a formação dos fagolisossomas e escapar da ação das enzimas lisossômicas após fusão dos fagossomas com os lisossomas (KREUTZ et al., 2001; COSTA, 2008), logo, as amostras lisas têm maior virulência que as rugosas. Assim, são transportadas até os linfonodos e se disseminam pelo organismo. Aparentemente, localizam-se e multiplicam-se no interior do retículo endoplasmático rugoso (MATHIAS; COSTA, 2007). Instalam-se preferencialmente em bolsas sinoviais e bainhas de tendões (THOMASSIAN, 2005).

A *Brucella* executa várias tarefas para evitar a destruição imediata: primeiro, contorna a forte ativação do sistema imune inato; em segundo lugar, a bactéria resiste à ação direta do complemento e de outras substâncias bactericidas; em terceiro lugar, resiste e escapa da ação dos fagócitos profissionais, tais como neutrófilos e macrófagos; finalmente, este micro-organismo mantém as células do hospedeiro vivas para estabelecer infecções de longa duração (BARQUERO-CALVO et al., 2007). Uma característica das interações das cepas de *Brucella* com macrófagos é que experimentalmente existe uma evidência de que essas bactérias têm a capacidade de prevenir a apoptose dos macrófagos em que residem (GROSS, et al., 2000). Esta propriedade de uma maneira concebível permite às brucelas estender a longevidade do seu refúgio seguro (ROOP II et al., 2009).

Há uma quantidade considerável de evidências que indicam a capacidade da *Brucella* de evitar ou interferir com componentes das respostas imunes inata e adquirida do hospedeiro que desempenha um papel crítico em sua virulência. Foi sugerido que a *Brucella* desenvolveu uma estratégia furtiva pela redução, alteração e ocultação de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), para assegurar baixa atividade estimulatória e toxicidade para as células.

Esta estratégia permite à *Brucella* alcançar seu nicho de replicação antes de ativar mecanismos antimicrobianos pela imunidade adaptativa (BARQUERO-CALVO et al., 2007).

Glicanos periplasmáticos osmorregulados são constituintes gerais dos envelopes de bactérias Gram-negativas. Entre eles está o  $\beta$ -1,2-glicano cíclico (C $\beta$ G), que é sintetizado pela *Brucella* e é importante para contornar as defesas da célula hospedeira. O C $\beta$ G é um fator de virulência que atua nos lipídeos encontrados nas membranas da célula hospedeira, prevenindo a fusão fagossomo - lisossomo (ARELLANO-REYNOSO et al., 2005).

A capacidade das brucelas de inibir a maturação das células dendríticas, que são células processadoras de antígenos, permite a essas bactérias contornar as respostas imune do hospedeiro. Como é o caso dos macrófagos, também é possível que as células dendríticas sirvam como refúgios seguros para evitar a exposição das brucelas aos componentes da resposta imune e atuem como veículos para a disseminação dessas bactérias no hospedeiro (ROOP II et al., 2009). Brucelas patogênicas são capazes de atingir os mecanismos de defesa celular do hospedeiro, controlando a função dos sentinelas do sistema imunológico, as células dendríticas. Em particular, a proteína Btp1 da *Brucella* tem como alvo a via de ativação do Receptor Toll-like (TLR) 2, que é um importante sistema de resposta do hospedeiro envolvido no reconhecimento de bactérias. A Btp1 está envolvida na inibição da maturação das células dendríticas. A consequência direta é um controle da secreção de citocinas inflamatórias e da apresentação de antígenos aos linfócitos T (SALCEDO et al., 2008).

Independentemente da fraca endotoxicidade de seu LPS, a virulência da *Brucella* também está ligada à estrutura química dessa molécula, a qual permite que estas bactérias se tornem altamente resistentes a fatores antibacterianos do sistema imune inato. Tem sido demonstrado que o LPS da *Brucella* impede respostas antimicrobianas por inibir o complemento e ataques de peptídeos antibacterianos e por impedir a síntese de mediadores imunes (LAPAQUE et al., 2005). Os resultados de Allen et al. (1998) confirmam a função do antígeno O na inibição de mecanismos de defesa intracelular do hospedeiro, possivelmente através de uma barreira física que impede componentes bactericidas liberados no interior do fagossomo de chegar à superfície celular.

Outros fatores que contribuem para o estabelecimento de uma infecção crônica por *Brucella* bem sucedida são a inibição da expressão de moléculas MHC-II (Complexo de Histopatocompatibilidade Maior Classe II) e da apresentação de antígenos por citocinas moduladoras (por exemplo, Interleucina-6) produzidos no microambiente da célula invadida (BARRIONUEVO et al., 2008).

Em bovinos e bubalinos, devido ao tropismo das brucelas por algumas substâncias como o eritritol, grande parte dessas bactérias se localiza nos testículos e útero gestante (BRASIL, 2006). Equinos, seres humanos, coelhos, ratos e outros roedores possuem ausência ou baixa produção do eritritol, o que justificaria, em tese, o reduzido impacto da brucelose como doença da esfera reprodutiva nestas espécies (RIBEIRO et al., 2008), e os muitos casos de latência em equídeos (DENNY, 1973).

#### 2.1.4 Sinais clínicos

Quando os equinos são criados com bovinos infectados, uma proporção relativamente alta pode se tornar infectada e desenvolver um resultado positivo em testes sorológicos, sem apresentar sinais clínicos (RADOSTITS et al. 2000). Inquéritos sorológicos têm indicado que muitos cavalos podem ser expostos a *B. abortus* sem desenvolver os sinais clínicos da doença (LANGENEGGER; SZECHY, 1961; OLIVEIRA et al., 1973; LANGONI; SILVA, 1997; ACOSTA-GONZÁLEZ et al., 2006; GÖZ et al., 2007; ABO-SHEHADA, 2009; ARAUJO et al., 2009; TEL et al., 2011). A forma latente, provavelmente é a forma mais comum da brucelose no cavalo (DENNY, 1973).

Na fase de bacteremia, pode ocorrer aumento da temperatura corporal, que, por ser fugaz, pode facilmente passar despercebida. Quando o processo se manifesta e se exterioriza na região nugal, recebe o nome de “mal-da-nuca”, e quando na região interescapular é denominado de “abscesso de cernelha” ou “fístula de cernelha”. No início, a região se apresenta aumentada de volume, quente e sensível à palpação, podendo tornar-se flutuante em um ou mais pontos (THOMASSIAN, 2005). O aumento de volume pode ser dorsal, uni ou bilateral, dependendo do arranjo dos sacos da bolsa entre as camadas de tecido. A bursite é um processo exsudativo de início, mas nenhuma supuração verdadeira ou infecção secundária ocorre até a ruptura da bolsa ou sua punção (FRASER, 1996). Após vários dias ou semanas a bursa se rompe, originando uma fístula cutânea que drena um exsudato seroso ou purulento. Tem-se identificado contaminação secundária com micro-organismos ambientais como *Streptococcus* spp., *Escherichia coli* e bactérias anaeróbias. Caso não seja tratada, pode ocorrer cicatrização aparente, fibrose e nova fistulação (ZICKER, 2006).

Outra forma de manifestação da doença é a infecção generalizada, com sinais clínicos que incluem rigidez geral, temperatura oscilante e letargia (DENNY, 1973; RADOSTITS et al., 2000; THOMASSIAN, 2005), além de comprometimento locomotor devido à instalação de sinovites em quase todas as sinóvias das articulações e bainhas dos tendões dos membros. A

brucelose também pode causar orquite no garanhão (THOMASSIAN, 2005). Os abortos em equídeos não são frequentes (DENNY, 1973; MATHIAS; COSTA, 2007).

O mal da cernelha e o mal da nuca são dois distúrbios inflamatórios de cavalos que diferem basicamente em sua localização, respectivamente a bolsa supra-espinhal e a bolsa supra-atlantal. Em casos adiantados e mais crônicos, o ligamento e a coluna vertebral dorsal são afetados e, ocasionalmente, nota-se necrose destas estruturas (FRASER, 1996). A bursa supraespinhosa apresenta localização e tamanho variável, mas geralmente localiza-se entre a segunda e quinta vértebras torácicas, podendo se estender ventrolateralmente até a borda da cartilagem escapular (ZICKER, 2006). A inflamação leva a um considerável espessamento da parede da bolsa (FRASER, 1996). A bursa supraespinhal intacta apresenta uma cápsula dilatada e espessa, contendo transudato amarelo-palha viscoso; a bursa aberta geralmente contém exsudato. Em casos crônicos podem-se observar fístulas múltiplas, fibrose e cicatrizes (ZICKER, 2006).

Em equídeos portadores de bursite de cernelha ou nugal, foi encontrada grande proporção de animais positivos para brucelose tanto em investigações sorológicas (DEEM, 1937; SILVA et al., 2001) quanto microbiológicas (LANGENEGGER; SZECHY, 1961). Silva et al. (2006) relataram um caso de brucelose em equino portador de bursite fistulosa de cernelha. Caldas e Ribeiro (1958) descreveram dois casos de brucelose equina caracterizados pela presença de bursite cervical.

A *B. abortus* foi sugerida como uma causa para a uveíte recidivante equina (URE) (THOMASSIAN, 2005; DZIEZYC; MILLICHAMP, 2006). Pode ocasionar epífora, blefaroespasma e quemose como sinais clínicos evidentes. Os cavalos podem ficar apáticos e apresentarem anorexia durante as fases ativas da doença. Ocorrem ainda distúrbios visuais, opalescência e turvação da córnea, hipópio e hifema. A pupila pode apresentar miose e sinéquia posterior, além de descoloração da íris. O cristalino poderá apresentar alterações na cápsula anterior e posterior e desenvolver catarata, assim como subluxação e luxação. Poderá haver o desenvolvimento secundário de glaucoma (THOMASSIAN, 2005).

### **2.1.5 Diagnóstico**

Segundo Denny (1973) e Thomassian (2005), evidência de infecção por *B. abortus* deve ser baseada em achados epidemiológicos, sinais clínicos, pesquisa da resposta imunológica à infecção (diagnóstico indireto), isolamento e identificação da bactéria (diagnóstico direto). Na análise epidemiológica, contato com bovino infectado com *Brucella* é uma forte evidência da infecção por este agente para equinos que apresentem fístula de cernelha (ZICKER, 2006).

Diferentes procedimentos têm sido utilizados no diagnóstico da brucelose em equídeos, embora o diagnóstico definitivo seja fundamentado no isolamento de bactérias do gênero *Brucella*, a partir de material biológico procedente de lesões articulares e/ou em ligamentos. Aspirado percutâneo e cultura microbiológica da secreção da bursa antes de seu rompimento são procedimentos que auxiliam o diagnóstico. A efusão de bursa não aberta contém poucas células e, ocasionalmente, flocos de fibrina. Meios de cultivo e condições de crescimento especiais são necessários para a cultura de *Brucella*. Após o rompimento da bursa, a contaminação secundária pode prejudicar o isolamento de cultura pura do micro-organismo primário e resultar em corrimento purulento (ZICKER, 2006).

A *Brucella abortus* e, ocasionalmente, a *B. suis* podem ser isoladas do líquido aspirado da bolsa ainda fechada (FRASER, 1996). *B. abortus* pode ser isolada em meios convencionais como o ágar-sangue ovino (5%) desfibrinado, em condições de aerofilia, a 37° C, por cinco dias (RIBEIRO et al., 2003), no entanto, o isolamento pode não ser bem sucedido devido a contaminação. Meios mais específicos como o ágar cérebro coração (BHA) e Ágar *Brucella*, suplementados com antibióticos (vancomicina, anfotericina B e o antimicrobiano violeta de genciana) devem ser utilizados (FREITAS; OLIVEIRA, 2005). Os métodos convencionais de identificação de espécies de *Brucella* incluem a necessidade de CO<sub>2</sub> para o seu crescimento, a produção de urease e H<sub>2</sub>S e sensibilidade aos corantes fucsina básica, tionina e azul de tionina (WINN JR. et al., 2010).

Em decorrência de maior praticidade, menor custo e tempo para a obtenção do diagnóstico, a pesquisa de anticorpos é o procedimento de escolha para a rotina do diagnóstico (MATHIAS; COSTA, 2007). A presença de anticorpos pode ser identificada pelos testes do antígeno acidificado tamponado e do 2-mercaptoetanol associado à Soroaglutinação Lenta (RIBEIRO et al., 2003). Apesar da disponibilidade de vários testes sorológicos, diferentes autores assinalam a ocorrência de reações inespecíficas e a dificuldade de padronização de título sérico significativo representativo de doença (RIBEIRO et al., 2003; ARICAPA et al., 2008). Segundo Aricapa et al. (2008), o AAT utilizado em equídeos não é muito específico, já que, no seu trabalho, os soros que apresentaram aglutinações leves, ao se realizar as provas confirmatórias, foram negativos.

A Fixação de Complemento é uma técnica altamente específica que identifica anticorpos fixadores de complemento da classe IgG, amplamente utilizada em vários países para o diagnóstico e para o trânsito internacional de animais em importação e exportação (BRASIL, 2006). Este teste sorológico adicional pode ser útil no diagnóstico da doença crônica no cavalo (DENNY, 1973).

A sensibilidade e a especificidade dos testes sorológicos devem ser medidas em comparação com o isolamento da *Brucella* de equídeos (ABO-SHEHADA, 2009).

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), focado em bovinos e bubalinos, não apresenta detalhamento sobre os métodos diagnósticos na brucelose para outros animais de produção (equinos, suínos, caprinos, ovinos). Epidemiologicamente, estas espécies poderiam atuar como reservatórios para o gênero *Brucella* para infecções interespecíficas, dificultando, em parte, o próprio sucesso do PNCEBT e o estabelecimento de conduta sanitária específica nas demais espécies de interesse zootécnico (RIBEIRO et al., 2008).

### **2.1.6 Controle e profilaxia**

No Brasil, as ações não estão voltadas ao controle da brucelose em equídeos, mas em bovinos e búfalos, devido à maior prevalência da doença nestas últimas espécies e à presença de normativa oficial de conduta do PNCEBT (RIBEIRO et al., 2008). Apesar de a maioria dos programas de controle ser direcionada principalmente para bovídeos, vários autores recomendam a inclusão de estratégias de vigilância e controle para brucelose para outros animais incluindo equídeos (ABO-SHEHADA, 2009; WADOOD et al., 2009; EHIZIBOLO et al., 2011).

A aquisição de equinos de propriedades livres ou não-enzoóticas para brucelose e a adoção de quarentena para animais recém-adquiridos também são procedimentos indicados no controle e na profilaxia. Nos casos de animais suspeitos, faz-se importante isolar o animal, coletar material biológico para o diagnóstico microbiológico e sorológico. Na presença de animais com isolamento microbiano e resultado sorológico positivo, recomenda-se a eutanásia dos animais em frigorífico ou abatedouro inspecionado, além de investigação soropidemiológica de animais contactantes (RIBEIRO et al., 2008).

Em pastos ou piquetes de criação de bovinos ou búfalos com abortamento recente pelo micro-organismo, aos quais os equinos têm acesso, recomenda-se impedir o ingresso de equinos e ruminantes por no mínimo seis meses, cortar a pastagem, bem como destinar corretamente as carcaças e os líquidos fetais (RIBEIRO et al., 2008). Zicker (2006) recomenda a separação de equinos daqueles bovinos positivos à *Brucella*.

### **2.1.7 Aspecto Zoonótico**

Apesar dos avanços na vigilância e controle, a prevalência da brucelose está aumentando em muitos países em desenvolvimento devido a vários fatores sanitários, socioeconômicos e políticos (PAPPAS et al., 2006). A prevalência da brucelose em humanos depende de vários

fatores, como hábitos alimentares, métodos de processamento de leite e produtos lácteos, práticas de manejo e higiene ambiental (GWIDA et al., 2010).

A transmissão do agente ocorre pelo contato com mucosas ou soluções de continuidade da pele (BRASIL, 2006) e não ocorre transmissão de pessoa a pessoa (BRASIL, 2010), no entanto existe a possibilidade de transmissão do agente via transfusão sanguínea (COSTA, 2008; KHORASGANI et al., 2008). Os equídeos podem atuar como fonte de infecção para o homem (CARPENTER e BOAK, 1937). Caldas et al. (1963) relataram a possibilidade de ocorrer infecção humana a partir de equinos brucélicos, tanto no campo, como no matadouro, e ainda os riscos para os consumidores de carne.

A brucelose é uma zoonose que apresenta um forte componente de caráter ocupacional: tratadores e veterinários, que frequentemente manipulam carcaças de animais, expõem-se ao risco de infecção quando esses materiais provêm de animais infectados. Magarefes e donas-de-casa são igualmente indivíduos sujeitos a um maior risco de infecção. Laboratoristas, por manipularem grandes massas bacterianas na rotina de diagnóstico direto, podem infectar-se por meio de soluções de continuidade da pele ou pelo contato com mucosas, sobretudo a conjuntiva e a mucosa respiratória (BRASIL, 2006).

## 2.2 LEPTOSPIROSE

### 2.2.1 Etiologia

O agente etiológico é a *Leptospira*, micro-organismo helicoidal, aeróbio obrigatório, que apresenta uma ou ambas as extremidades encurvadas ou em forma de gancho, dotado de grande motilidade (BRASIL, 1995). Em 2007, o Subcomitê de Taxonomia reorganizou a família *Leptospiraceae*, resultando em uma família com 13 espécies patogênicas de *Leptospira*: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii*, *L. wolffii*, com mais de 260 sorovares. Espécies saprófitas de *Leptospira* incluem: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*, e contêm mais de 60 sorovares (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). Segundo Thomassian (2005), nos equinos os sorotipos mais importantes são Icterohaemorrhagiae, Pomona, Hardjo e Canicola.

O período de sobrevivência das leptospirosas patogênicas na água varia segundo a temperatura, pH, salinidade e grau de poluição. Sua multiplicação é ótima em pH compreendido entre 7,2 e 7,4. Experimentalmente já foi constatada persistência de leptospirosas viáveis em água por até 180 dias. Essa bactéria morre em 10 minutos à temperatura de 56°C e em 10 segundos quando a 100°C. Sobrevive ao frio e mesmo ao congelamento (100 dias, a -20°C); é muito sensível aos

ácidos, perdendo sua motilidade em 15 minutos, quando em solução de HCl a 1:2000 (BRASIL, 1995).

*Leptospira* spp. possuem fatores de virulência que são componentes celulares (flagelo, adesinas, lipopolissacarídeos) e componentes de secreção (hemolisinas, esfingomielinases, fosfolipases) (KREUTZ et al., 2001).

### 2.2.2 Epidemiologia

A leptospirose é uma zoonose que ocorre em diversas espécies animais, como bovinos, suínos, equinos, cães, roedores, animais silvestres e seres humanos. Está distribuída por todo o mundo, mas determinados sorovares de *Leptospira* spp. são encontrados com maior frequência em determinada área geográfica ou em determinadas espécies animais (OLIVEIRA; PIRES NETO, 2004).

Evidência sorológica de infecção leptospírica é comum em cavalos, e títulos para vários sorovares têm sido relatados, principalmente para membros do sorogrupo Icterohaemorrhagiae (HASHIMOTO et al. 2007). Na Suécia, Baverud et al. (2009) encontraram os sorovares Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Sejroe, Pomona e Grippotyphosa. Na Ásia, prevalência de 25,0% foi obtida na Coreia (JUNG et al., 2010) e na Mongólia de 17,1% (ODONTSETSEG et al., 2005).

No Canadá, títulos sorológicos em equinos foram encontrados para os sorovares Bratislava (KITSON-PIGGOT; PRESCOTT, 1987; WILKIE et al., 1988; LEES; GALE, 1994), Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo (KITSON-PIGGOT; PRESCOTT, 1987; LEES; GALE, 1994), Pomona (CARPIO; IVERSEN, 1979; KITSON-PIGGOT; PRESCOTT, 1987; WILKIE et al., 1988; LEES; GALE, 1994) e Copenhageni (LEES; GALE, 1994), e o sorovar Kennewicki (sorogrupo Pomona) foi isolado a partir de fetos abortados (KITSON-PIGGOT; PRESCOTT, 1987; WILKIE et al., 1988). Nos Estados Unidos, além dos sorovares relatados no Canadá, títulos foram encontrados para os sorovares Australis, Ballum e Bataviae (HODGIN et al., 1989; BARWICK et al., 1998a), e tanto o Kennewicki quanto o Grippotyphosa foram isolados a partir de tecidos de fetos abortados ou natimortos (DONAHUE et al., 1992; DONAHUE et al., 1995). Na Argentina o sorovar predominante foi o Pyrogenes (MYERS, 1976).

No Brasil, as prevalências são bastante variáveis, mas nota-se certa predominância do sorovar Icterohaemorrhagiae, com a maioria dos estudos sendo realizados apenas com equinos, conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2 – Registros da prevalência da infecção por *Leptospira* spp. e sorovares predominantes, por estados, no Brasil

<b>Autor</b>	<b>Ano</b>	<b>Estado</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>Sorovar predominante</b>	<b>Espécies</b>
JARDIM et al.	1978b	GO	14,4	Grippotyphosa	E
LILENBAUM	1998	RJ	43,0	Icterohaemorrhagiae	E
LANGONI et al.	2004	SP, GO, MS	54,0	Icterohaemorrhagiae	E
OLIVEIRA; PIRES NETO	2004	RS	73,3	Bratislava	E
LINHARES et al.	2005	GO	45,0	Icterohaemorrhagiae	E
GOMES et al.	2007	BA	23,0	Icterohaemorrhagiae	E
HASHIMOTO et al.	2007	PR	66,9	Icterohaemorrhagiae	E
AGUIAR et al.	2008	RO	91,4	Bratislava	E e M
CHIARELI	2007	MG	5,9	Hardjo	E, A e M
MACIEL et al.	2008	RS	100,0	Icterohaemorrhagiae	E
BEZERRA et al.	2010	MA	85,0	Copenhageni	A
BRAGA et al.	2011	RJ	53,8	Icterohaemorrhagiae	E
SANTOS et al.	2012	RJ	71,9	Bratislava	E, A e M

Convenções: E – Equina; M – Mular; A – Asinina

O agente é mantido na natureza em animais com infecção crônica e pela presença de leptospiras nos túbulos renais de hospedeiros adaptados. Nestes, a infecção é mantida independentemente das condições ambientais (OLIVEIRA; PIRES NETO, 2004). Hospedeiro de manutenção, sinônimo de reservatório, é aquele em que um agente infeccioso normalmente vive e se multiplica, e, portanto, é uma fonte comum de infecção para outros animais (THRUSFIELD, 2005). Portanto, em determinada região, um sorovar de leptospiras será adaptado para infectar uma ou mais espécies animais (OLIVEIRA; PIRES NETO, 2004). A ocorrência de sorovares específicos é dependente da presença e prevalência de espécies hospedeiras específicas que atuam como reservatório do agente. Alguns sorovares estão associados com espécies de reservatório particulares, por exemplo, Icterohaemorrhagiae e Copenhageni com *Rattus norvegicus*, ao passo que outros sorovares têm várias, ou ainda desconhecidas, espécies de reservatório (HOUWERS et al., 2011).

Os roedores são os hospedeiros naturais da sorovariedade Icterohaemorrhagiae, que é mais comum em equídeos que vivem próximos às áreas urbanas, devido à maior possibilidade de

contato com seus respectivos hospedeiros naturais (CHIARELI et al., 2008). Lilenbaum (1998) atribuiu a alta predominância de éguas positivas para a sorovarietade Icterohaemorrhagiae à presença de roedores, pois esses são reservatórios do agente e são, portanto, fonte de infecção para os equinos.

Segundo Thomassian (2005), nos equinos os sorovares mais importantes podem ser transmitidos por reservatórios como ratos, suínos, bovinos, gambás, preás, raposas, morcegos, que podem contaminar a água e os alimentos destinados ao consumo dos animais.

Alguns estudos demonstraram que os cavalos podem disseminar o agente pela urina, permitindo que os equinos sirvam como um importante reservatório para a transmissão do agente para animais ou para o homem (MYERS, 1976; YAN et al., 2010; HAMOND et al., 2012a). Devido à uretra constituir-se na via comum para a eliminação de urina e sêmen, é possível que este último também venha a ser contaminado por leptospiros, o que tornaria possível a transmissão venérea do agente tanto pela monta natural, como pela inseminação artificial. A infecção transplacentária é comum entre animais; quando isso ocorre, pode resultar em aborto, parto prematuro ou nascimento de animais debilitados (BRASIL, 1995).

A manutenção da leptospirose nas regiões urbanas e rurais do Brasil é favorecida também pelo clima tropical úmido e uma grande população de roedores. O crescimento urbano desordenado e a grande quantidade de lixo espalhado sobre vias e terrenos baldios propiciam também um ambiente ideal para a proliferação da população murina (BEZERRA et al., 2010).

Em várias investigações a soroprevalência foi maior para o sorovar Bratislava do que para outros sorovares, e o cavalo tem sido sugerido como um hospedeiro de manutenção para este sorovar (KITSON-PIGGOT; PRESCOTT, 1987; VAN DEN INGH et al., 1989; PARK et al., 1992), mas a importância clínica da infecção por este sorovar em equinos não é clara (KITSON-PIGGOT; PRESCOTT, 1987). Jung et al. (2010) sugerem que os equinos pesquisados por eles podem atuar como hospedeiros de manutenção para o sorovar Sejroe.

O sorovar Pomona é mantido em bovinos e suínos, e o cavalo é um hospedeiro acidental (LILENBAUM, 1998). A contaminação de corpos d'água parada por suínos e/ou animais silvestres pode resultar em infecção disseminada pelo sorotipo Pomona em determinados rebanhos de cavalos (CARPIO; IVERSEN, 1979).

Alguns estudos de fatores de risco foram realizados para identificar as possíveis variáveis associadas à infecção por *Leptospira* spp., e dentre os aspectos com associação significativa destacam-se o sexo, raça, aptidão, e idade (LANGONI et al., 2004). Entretanto, Chiareli (2007) cita que a raça, espécie, idade e sexo dos equídeos não são fatores que interferem na infecção por *L. interrogans*.

A prevalência do sorovar Bratislava aumentou significativamente com a idade (KITSON-PIGGOT; PRESCOTT, 1987) e quando os cavalos foram expostos a fatores associados com a criação ao ar livre (BAVERUD et al., 2009). No trabalho realizado por Park et al. (1992), houve maior proporção de títulos positivos entre as fêmeas com o aumento da idade, particularmente aquelas na faixa etária de 8-11 anos. Segundo Lees e Gale (1994), em geral, as possibilidades de um cavalo ser reagente aumentou cerca de 10% com cada ano de vida.

Em um estudo realizado por Lees e Gale (1994), cavalos manejados individualmente tiveram uma prevalência menor em comparação com os que são manejados em grupos. Barwick et al. (1998b) examinaram os fatores de risco associados com o risco de soropositividade para três sorovares de *L. interrogans* (Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa e Canicola) nos cavalos do Estado de Nova York. Esses autores concluíram que a exposição indireta de cavalos a *L. interrogans* pelo solo e água contaminados parece estar significativamente associada com o risco de exposição a todos os três sorovares, e o manejo parece desempenhar um papel importante na exposição a *L. interrogans*.

### 2.2.3 Patogenia

A *Leptospira* penetra ativamente pela via digestória ou através da pele lesada, e, após um período de incubação de 2 a 5 dias, invade o sangue, se multiplica intensamente neste e em vários órgãos, caracterizando o período febril de leptospiremia que é discreto, para ser seguido por um período de leptospirúria que pode variar de 3 a 6 meses (THOMASSIAN, 2005).

Parma et al. (1985) mostraram que a córnea de equinos e a *Leptospira* compartilham identidade antigênica parcial, e afirmam que a relação antigênica entre a córnea de equinos e a *Leptospira* é em parte responsável pela patogênese da opacidade da córnea na leptospirose de cavalos, embora a presença de *Leptospira* viva possa ajudar em relação a esses fenômenos. O achado de anticorpos anti-*Leptospira* em lágrimas e humor aquoso de equinos mostra o caminho ao longo do qual eles chegam à córnea e se ligam a ela (PARMA et al., 1987). Parma et al. (1992a) concluíram que o sítio de ligação na córnea e na lente para anticorpos anti-*Leptospira* envolve uma fração peptídica. A antigenicidade que antígenos da córnea equina compartilham com moléculas da superfície leptospírica permite a ligação de anticorpos anti-*Leptospira* à córnea, ativa o complemento, e inicia os mecanismos de danos nos tecidos (PARMA et al., 1992b). Os epítomos compartilhados entre a *Leptospira* e a córnea equina pertencem a uma estrutura proteica localizada dentro dessa bactéria (PARMA et al., 1997). Os achados de Lucchesi e Parma (1999) sugerem que uma resposta imune a um antígeno leptospírico participa na patogênese da uveíte equina por uma reação cruzada com tecidos oculares. Uma sequência de

DNA do sorovar Pomona relacionada com o antígeno semelhante à córnea equina foi detectada em várias amostras de *Leptospira* pertencentes a diferentes sorovares (LUCCHESI et al., 2002). Verma et al. (2005) identificaram lipoproteínas leptospíricas, LruA and LruB, associadas com uveíte recorrente em equinos. Os anticorpos resultantes podem interagir com proteínas em tecidos da retina e da lente através de reação cruzada e podem, portanto, contribuir para a severidade da doença ocular (VERMA et al., 2010).

*Leptospira kirschneri* sorovar Grippytyphosa tem sido considerada como a causa infecciosa mais comum de Uveíte Recidivante Equina (URE) na Europa (HARTSKEERL et al., 2004). A associação de URE com leptospirosas patogênicas foi estabelecida pelo isolamento de *Leptospira* a partir de fluidos oculares de cavalos uveíticos (FABER et al., 2000; HARTSKEERL et al., 2004).

Soros de fetos abortados devido à infecção pelo sorovar Pomona tipo kennewicki têm, frequentemente, níveis significativos de IgG<sub>a</sub> e IgM específicas para leptospira (SHEORAN et al., 2000), uma indicação de que a infecção está presente durante semanas/meses antes da expulsão do feto (TIMONEY et al., 2011).

Considerando as propriedades anti-inflamatória e antioxidante da acetilhidrolase do fator ativador de plaquetas (PAF-AH) e da paraoxonase-1 (PON1), Turk et al. (2011) investigaram o efeito da infecção por *Leptospira* spp. na atividade dessas duas enzimas em equinos sem sinais clínicos de leptospirose. Segundo os autores, os resultados encontrados podem indicar baixos níveis de resposta inflamatória sistêmica e estresse oxidativo em cavalos com leptospirose subclínica, mas não excluem possível envolvimento da PAF-AH e PON1 na patogênese da leptospirose em cavalos.

#### **2.2.4 Sinais clínicos**

Nos equídeos, a leptospirose se manifesta por uveíte recorrente, abortamentos e outros distúrbios reprodutivos. Evolui geralmente como doença aguda ou crônica, individual ou de grupo de animais, sendo que a maioria das infecções apresenta caráter inaparente (JONES et al., 2000). Leptospirose crônica deve ser considerada em casos de oftalmia periódica em cavalos (OIE, 2008). No entanto, nem todos os animais infectados têm a doença aguda, e infecções subclínicas são muito comuns (LANGONI et al., 2004; JUNG et al., 2010; HOUWERS et al., 2011). Os sinais de leptospirose são mais severos e característicos quando a infecção ocorre por sorovares não adaptados ao animal (infecção acidental) (OLIVEIRA; PIRES NETO, 2004).

O micro-organismo pode causar uveíte (FABER, et al. 2000; HARTSKEERL et al., 2004; BRANDES et al., 2007; PEARCE et al., 2007) e doença renal aguda (HOGAN et al.,

1996; FRAZER, 1999). Outros sinais podem ser observados, tais como: febre, icterícia, dificuldade respiratória, depressão, diarreia e andar instável (VAN DEN INGH et al., 1989).

Uma das principais manifestações clínicas encontradas em equinos são problemas reprodutivos: natimortos, nascimento de potros prematuros, placentites, hidroalantóide e abortos (WILKIE et al., 1988; HODGIN et al., 1989; DONAHUE et al., 1991; DONAHUE et al., 1992; HONG et al., 1993; POONACHA et al., 1993; TENGELSEN et al., 1997; PESCADOR et al., 2004; VEMULAPALLI et al., 2005; LÉON et al., 2006; WHITWELL et al., 2009; SHANAHAN; SLOVIS, 2011; TIMONEY et al., 2011).

Uveíte recorrente equina (URE) se manifesta por episódios repetidos de inflamação envolvendo um ou ambos os olhos, e frequentemente resulta em problemas de visão ou cegueira (ROHRBACH et al., 2005). Os sinais agudos da URE incluem blefaroespasmo, lacrimejamento, fotofobia, miose, edema e vascularização de córnea, e hipópio (LUCCHESI et al., 2002). Cavalos infectados com *Leptospira* muitas vezes sofrem de opacidade da córnea (PARMA et al., 1985).

Braga et al. (2011) concluíram que equinos sororreagentes para o sorovar Icterohaemorrhagiae tiveram uma prevalência significativamente maior de alterações oftálmicas do que equinos soronegativos, Hamond et al. (2011) que a leptospirose determinada pelo sorovar Copenhageni pode estar relacionada à hemorragia pulmonar em equinos, e Hamond et al. (2012b) que a leptospirose subclínica pode prejudicar o desempenho atlético de cavalos de corrida e que o tratamento antibiótico específico pode melhorar a performance dos animais afetados.

### **2.2.5 Diagnóstico**

O diagnóstico da leptospirose animal apoia-se fundamentalmente nos resultados obtidos em exames laboratoriais que determinam a presença do agente etiológico ou presença de anticorpos (HOGAN et al., 1996; VASCONCELLOS, 2006).

A utilização, interpretação e o valor de procedimentos de diagnóstico laboratoriais para a leptospirose variam de acordo com a história clínica do animal ou rebanho, a duração da infecção e o sorovar infectante (OIE, 2008).

O isolamento a partir do sangue muitas vezes não é bem sucedido porque a bacteremia é transitória e muitas vezes não é acompanhada de sinais clínicos. Pode-se realizar o isolamento do agente nos casos de infecção leptospírica generalizada em vários órgãos obtidos na necropsia. A interpretação dos resultados de isolamento no trato genital, rins, ou urina deve ser realizada com cautela, visto que estes achados podem indicar simplesmente o estado de portador (OIE, 2008).

A demonstração de leptospiras em fluidos corporais ou órgãos (rim, fígado, pulmão, cérebro, ou glândula adrenal) de fetos abortados ou natimortos é considerado como diagnóstico de leptospirose crônica da mãe e é uma evidência de infecção ativa do feto (OIE, 2008).

O isolamento de leptospiras é o método mais sensível de demonstrar a sua presença, desde que resíduos de antibióticos estejam ausentes, que autólise tecidual não esteja avançada, que os tecidos sejam processados rapidamente após a colheita, e, no caso da urina, esteja a um pH adequado. Se os tecidos ou fluidos não puderem ser transportados imediatamente para o laboratório para cultura leptospírica, a amostra deve ser mantida entre 2 - 5°C para evitar o crescimento excessivo de outras bactérias e autólise de amostras de tecido (OIE, 2008). A taxa de recuperação de leptospiras de cavalos assintomáticos é baixa, com poucos ou às vezes nenhum isolado (KITSON-PIGGOT; PRESCOTT, 1987; ROCHA et al., 2004). Em cavalos febris, *Leptospira* pode ser isolada a partir do sangue, enquanto o isolamento a partir da urina pode ocorrer depois de a febre diminuir (YAN et al., 2010).

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem sido utilizada para a demonstração do agente no tecido de potros prematuros (VEMULAPALLI et al., 2005; LÉON et al., 2006) e no humor aquoso e vítreo de cavalos afetados por uveíte recorrente (FABER et al., 2000; BRANDES et al., 2007). DNA leptospírico também foi detectado em fluido torácico (PINNA et al., 2011) e suco gástrico (HAMOND et al., 2012c) de fetos abortados. A PCR é uma ferramenta de diagnóstico rápido e definitivo, que deve ser mais frequentemente utilizada para o diagnóstico de casos suspeitos de leptospirose em abortos equinos (PINNA et al., 2011).

O teste sorológico é o procedimento laboratorial mais utilizado para confirmar o diagnóstico clínico, para determinar a prevalência do rebanho e realizar estudos epidemiológicos. Anticorpos leptospíricos aparecem dentro de alguns dias do início dos sinais clínicos e persistem durante semanas ou meses, e, em alguns casos, anos. Os títulos de anticorpos podem ser reduzidos a níveis indetectáveis enquanto os animais permanecem cronicamente infectados. Para superar este problema, métodos diretos são necessários para detectar o organismo na urina ou no trato genital de portadores crônicos (OIE, 2008).

Uma grande variedade de testes sorológicos, que mostram diferentes graus de especificidade para sorogrupos e sorovares, tem sido descrita. Dois testes têm um papel no diagnóstico veterinário: a soroaglutinação microscópica (SAM) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) (OIE, 2008). Ao realizar um diagnóstico sorológico da leptospirose, o sorovar infectante e o estado clínico envolvidos devem ser plenamente considerados (OIE 2008).

A SAM utilizando antígenos vivos é o teste sorológico mais utilizado (OLIVEIRA; PIRES NETO, 2004). É o teste de referência, baseado no qual todos os outros testes sorológicos

são avaliados e é utilizado como teste de importação/exportação. Como um teste de um animal individualmente, a SAM é muito útil para o diagnóstico da infecção aguda; a demonstração de um aumento de quatro vezes no título de anticorpos em amostras de soro pareadas nas fases aguda e convalescente é indicativo de infecção caso o animal não seja vacinado. Um único achado de um título alto juntamente com sinais clínicos é considerado positivo. Para aumentar a sensibilidade, os antígenos utilizados devem ser dos sorogrupos conhecidos existentes na região em que os animais são encontrados (OIE, 2008). A presença de um sorogrupo é geralmente indicada por reação frequente em testes sorológicos, mas só pode ser definitivamente identificada pelo isolamento de um sorovar a partir de animais clinicamente afetados (OIE, 2008). Em animais com histórico de vacinação, é importante a pesquisa de anticorpos em soros pareados.

O ELISA pode também ser útil para a detecção de anticorpos contra leptospiros. Vários ensaios têm sido desenvolvidos e são principalmente utilizados para a detecção de infecções recentes e triagem de animais experimentais para uso em estudos de desafio. Animais que foram vacinados contra o sorovar de interesse podem ser positivos em alguns ELISAs, o que complica a interpretação dos resultados (OIE, 2008).

### **2.2.6 Controle e profilaxia**

É importante identificar os animais infectados com diferentes sorovares e os fatores associados ao risco de exposição a *L. interrogans* para elaborar e implementar estratégias de controle para evitar a exposição e transmissão deste micro-organismo. A modificação das práticas de manejo pode reduzir o risco de exposição dos cavalos e assim minimizar os riscos humanos (BARWICK et al., 1998b).

Devem ser analisados os hospedeiros preferenciais que passarão a ser o alvo das medidas de controle: a) roedor sinantrópico (*Rattus norvegicus*) - Icterohaemorrhagiae; b) suínos - Pomona; c) cães - Canícola; d) marsupiais - Grippytyphosa; e) bovinos - Hardjo; f) suínos e equinos - Bratislava. Destaca-se, contudo, que estas associações podem apresentar variações regionais (VASCONCELLOS, 2006).

Em cada um dos componentes da cadeia de transmissão podem ser aplicadas medidas de controle racionais:

a) Fontes de infecção: identificação (diagnóstico), combate aos reservatórios sinantrópicos, segregação e tratamento dos animais de produção e companhia; vigilância epidemiológica dos doadores de sêmen e dos contactantes; b) Vias de Transmissão: saneamento do meio, drenagem, destino adequado de excretas, cadáveres e restos de animais, higiene e desinfecção das

instalações e equipamentos zootécnicos, armazenagem adequada de alimentos (volumosos e concentrados), controle sanitário da inseminação artificial; c) Suscetíveis: proteção específica pelo emprego de imunógenos preparados com os sorovares de leptospiros identificados na região (BRASIL, 1995; VASCONCELLOS, 2006).

### **2.2.7 Tratamento**

O tratamento pode ser realizado associando-se 10.000 UI/kg de penicilina benzatina e 5 mg/kg de estreptomicina pela via intramuscular, e, concomitantemente, 10mg/kg/dia de oxitetraciclina dissolvida na água de bebida durante 10 a 15 dias. Outro tratamento eficiente consiste na aplicação em dose única de 25 mg/kg de estreptomicina, podendo-se fracioná-la em intervalos de 48 horas (THOMASSIAN, 2005). Os dados de Rohrbach et al. (2005) não sustentam o uso da vacinação contra a leptospirose como terapia adjuvante para o tratamento de rotina de cavalos com URE. Estreptomicina pode ser de alguma ajuda em casos de cerato-uveíte não ulcerativa soropositivos para leptospirose (WADA et al., 2003).

### **2.2.8 Aspecto zoonótico**

A transmissão ao homem ocorre diretamente por contato com urina, sangue, tecidos ou órgãos de animais infectados; ou indiretamente, pelo contato com água e/ou solo úmido ou vegetação contaminados com urina de animais infectados. A transmissão acidental em laboratório e a ingestão de alimentos contaminados são também descritos. A forma mais frequente de transmissão humana consiste na exposição à urina de animais infectados (BRASIL, 1995).

Principalmente em área urbana, os grupos populacionais mais expostos são aqueles que trabalham ou vivem em áreas sujeitas à enchentes, em precárias condições de moradia e/ou sem saneamento, em contato com água ou lama e/ou esgotos contaminados pela urina do roedor. Pelo convívio com os animais e por se expor ao meio ambiente, o habitante da área rural está igualmente sujeito a se infectar (BRASIL, 1995).

Tendo em vista a proximidade dos equídeos com o ser humano, animais assintomáticos, mas portadores do agente, são considerados como um perigo iminente para a saúde humana, pois podem eliminar o agente constantemente no ambiente pela urina (BARWICK et al., 1998b; HASHIMOTO et al., 2007; FINGER, 2012).

## 2.3 TOXOPLASMOSE

### 2.3.1 Etiologia

*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório que infecta a maioria das espécies de animais de sangue quente, incluindo as aves e o homem, na maior parte do mundo (FRASER, 1996). Pertence ao filo Apicomplexa (VITOR, 2005). A toxoplasmose é uma doença importante pelos danos reprodutivos em várias espécies de animais e principalmente nos humanos (FIALHO et al., 2009).

*T. gondii* está entre os mais comuns parasitos de animais e é a única espécie conhecida do gênero *Toxoplasma*. Coccídeos em geral têm ciclos de vida complexos. Há três estágios infecciosos para todos os hospedeiros: taquizoítos (individualmente e em grupos), bradizoítos (em cistos teciduais) e esporozoítos (em oocistos) (DUBEY, 2004). O oocisto é a fase ambientalmente resistente (DUBEY; JONES, 2008).

Os oocistos maduros têm grande importância epidemiológica, pois, em condições de umidade, temperatura e local favoráveis, são capazes de se manter infectante por cerca de 12 a 18 meses. Podem permanecer viáveis a 4°C por até 54 meses, a -10°C por 106 dias, mas morrem após uma a dois minutos a 55-60°C. Os cistos em carcaças permanecem viáveis a 4°C por mais de três meses (KAWAZOE, 2005).

### 2.3.2 Epidemiologia

Embora a maioria dos coccídeos seja hospedeiro-específico, e apenas transmitido por um ciclo fecal-oral, *T. gondii* também pode ser transmitido por via transplacentária e por carnivorismo. Felídeos são as espécies de maior importância epidemiológica no ciclo de vida do parasito, porque são os hospedeiros que podem excretar o oocisto (DUBEY; JONES, 2008). Após a infecção, os gatos eliminam oocistos durante apenas uma ou duas semanas. Pode ocorrer disseminação posterior de oocistos por insetos coprófagos, que podem contaminar as forragens (URQUHART et al., 1998). A maioria dos gatos infecta-se pela ingestão de animais infectados por *Toxoplasma*, usualmente roedores, cujos tecidos contêm taquizoítos ou bradizoítos, embora também possa ocorrer transmissão direta de oocistos entre gatos (URQUHART et al., 1998), pelo contato com fezes, ou alimentos ou água contaminados pelas fezes de gatos. Os equídeos geralmente se infectam pela ingestão de alimentos ou água contaminados por oocistos presentes nas fezes dos felídeos.

Exames sorológicos para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em equídeos foram realizados em vários países. Soroprevalência relativamente baixa de *T. gondii* tem sido observada em equinos na América do Norte. Dubey et al. (1999a) analisaram 1778 amostras de

soro de equinos abatidos para consumo, utilizando Aglutinação Direta Modificada (MAT), e encontraram 124 (6,9%) amostras positivas, com títulos de 1:20 (69 equinos), 1:40 (37 equinos), 1:80 (nove equinos) e maior ou igual a 1:160 (nove equinos). Nos Estados Unidos, foi detectada uma soropositividade de 0,4% (1/276, com título de apenas 1:25) em equinos selvagens no estado de Wyoming, também usando MAT (DUBEY et al., 2003). Outras pesquisas, em países latino americanos, demonstram que anticorpos para *T. gondii* são frequentes: Dangoudoubiyam et al. (2011) na Costa Rica utilizando MAT encontraram 34,0% de animais positivos, e Dubey et al. (1999b) descreveram reações positivas em 13,1% (10/76) na Argentina, com títulos de 1:25 (2), 1:50 (5), 1:100 (2) e 1:200 (1).

Na Europa, uma baixa prevalência também foi encontrada na Suécia utilizando o método de aglutinação direta (MAD) (1,0%) e *immunoblotting* (0,5%) (JAKUBEK et al., 2006). Anticorpos contra *T. gondii* foram detectados em 24,0% dos equinos na República Tcheca testados pelo Teste de Aglutinação em Látex (LAT) (BÁRTOVÁ et al., 2010). Na Turquia, usando a Reação de Sabin-Feldman (SFR), Akca et al. (2004) relataram uma soropositividade em equinos de 20,6% na província de Kars, e Karatepe et al. (2010), na província de Nigde, soropositividade de 7,2%. Göz et al. (2007), usando o Teste de Hemaglutinação Indireta (IHA) e SFR, obtiveram prevalências de 13,5% e 28,4% respectivamente.

Shaapan et al. (2012) realizaram exames em 240 cavalos de esporte no Cairo, Egito, utilizando PCR, LAT, ELISA e MAT, que revelaram 53,8%, 52,1%, 50,8% e 39,2% de animais positivos, respectivamente.

No Irã, uma prevalência de 71,2% foi encontrada em equinos utilizando MAT (HAJIALILO et al., 2010). Prevalência de 1,8% foi encontrada na Grécia utilizando ELISA (KOUAM et al., 2010). Alanazi e Alyousif (2011) encontraram anticorpos anti-*T. gondii* em 32,0% dos equinos pesquisados em uma província da Arábia Saudita usando SFR. Boughattas et al. (2011) encontraram anticorpos em 17,7% dos equinos testados na Tunísia utilizando MAT. Balkaya et al. (2011) detectaram 62,0% de soropositividade em asininos procedentes da província de Erzurum, na Turquia, e determinaram a presença de soropositividade em fêmeas e machos como sendo 67,3% e 54,1% respectivamente, utilizando SFR.

*Toxoplasma gondii* é um parasito de ampla distribuição e alta prevalência no Brasil (FIALHO et al., 2009), com prevalência em equídeos variando de 1,5% a 32,8% (LARANJEIRA et al., 1985; GAZÊTA et al., 1997; VIDOTTO et al., 1997; GARCIA et al., 1999; MENDONÇA et al., 2001; NAVES et al., 2005; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006; LANGONI et al., 2007; CAMOSSO et al., 2010; COIRO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012), conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3 – Registros da infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil

<b>Autor</b>	<b>Ano</b>	<b>Origem</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>Testes</b>	<b>Espécies</b>
LARANJEIRA et al.	1985	MS	32,8	RIFI	E
GAZÊTA et al.	1997	RJ	4,4	RIFI	E
VIDOTTO et al.	1997	SP, PR, MS, MT	31,5	RIFI	E
GARCIA et al.	1999	PR	12,1	RIFI	E
MENDONÇA et al.	2001	BA	1,5	RIFI, MAD	E, A e M
NAVES et al.	2005	MG	12,8	RIFI	E
LOCATELLI-DITTRICH et al.	2006	PR	2,7	RIFI	E
LANGONI et al.	2007	Diversas	7,0	MAT	E
CAMOSSI et al.	2010	SP	12,6	MAT	E
			5,9	RIFI	
COIRO et al.	2012	SP	5,9	RIFI	E
OLIVEIRA et al.	2012	PE, RN, PB, SE	27,3	RIFI	A e M

Convenções: RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta; MAD – Método de Aglutinação Direta; MAT – Aglutinação Direta Modificada; E – Equina; A – Asinina; M – Muar

Alguns estudos de fatores de risco foram realizados para identificar as possíveis variáveis associadas à infecção por *T. gondii* em equídeos, e dentre os aspectos estudados destacam-se a espécie (asininos) (GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2012); raça (Árabe) (BOUGHATTAS et al., 2011); tipo de atividade (agropecuária) e a localização (KOUAM et al., 2010); sexo (GAZÊTA et al., 1997; KARATEPE et al., 2010; BOUGHATTAS et al., 2011; SHAAPAN et al., 2012) e idade (KOUAM et al., 2010; BALKAYA et al., 2011; BOUGHATTAS et al., 2011; GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2012). Entretanto, Mendonça et al. (2001) e Camossi et al. (2010) não detectaram diferença no que se refere às variáveis idade e sexo, e Karatepe et al. (2010) também em relação à faixa etária.

Gazêta et al. (1997), no Rio de Janeiro, encontraram maior prevalência de animais positivos manejados em ambiente urbano comparada com a de animais em áreas rurais. No entanto, segundo Dubey e Jones (2008), há um forte potencial para transmissão de *T. gondii* em ambientes rurais, já que os resultados de Weigel et al. (1999) sugerem que o contato com o solo, que pode estar contaminado com oocistos, é um provável modo de transmissão, o que ocorre mais frequentemente em áreas rurais.

### 2.3.3 Patogenia

Os hospedeiros definitivos são todos os felídeos, sendo o gato doméstico o mais importante. Os hospedeiros intermediários são quaisquer mamíferos, incluindo o gato, ou aves (URQUHART et al., 1998). O taquizoíto tem forma de meia-lua (FORTES, 2004) e mede 2  $\mu\text{m}$  x 6  $\mu\text{m}$ . Ele invade a célula hospedeira por penetração ativa da membrana da célula e torna-se rodeado por um vacúolo parasitóforo que o protege de mecanismos de defesa do hospedeiro. O taquizoíto multiplica-se assexuadamente por divisões binárias repetidas até a ruptura da célula hospedeira (DUBEY, 2004).

Depois de um número desconhecido de divisões, taquizoítos de *T. gondii* dão origem a um outro estágio chamado de cisto tecidual. Os cistos teciduais crescem e permanecem dentro da célula. Variam em tamanho de 5 a 70  $\mu\text{m}$  e contêm poucos a centenas de bradizoítos (DUBEY et al., 1998). Embora eles possam se desenvolver em órgãos viscerais, incluindo pulmões, fígado e rins, são mais prevalentes em tecidos musculares e neurais, incluindo o cérebro, olho, músculo esquelético e cardíaco (DUBEY, 2004). Os cistos teciduais intactos provavelmente não causam qualquer dano e podem persistir durante a vida do hospedeiro sem causar uma resposta inflamatória do hospedeiro (DUBEY et al., 1998).

A parede do cisto tecidual é elástica, fina (<0,5  $\mu\text{m}$ ), e pode incluir centenas de bradizoítos delgados em forma de crescente cada um medindo 7  $\mu\text{m}$  x 1,5  $\mu\text{m}$ . Bradizoítos diferem apenas ligeiramente de taquizoítos em ter um núcleo situado na extremidade posterior ao passo que o núcleo de taquizoítos é mais central. Bem como, bradizoítos são mais delgados do que os taquizoítos e menos susceptíveis à destruição por enzimas proteolíticas (DUBEY, 2004).

Os gatos geralmente se infectam pela ingestão de carnes contaminadas por *Toxoplasma*, usualmente roedores (URQUHART et al., 1998). As taxas de infecção em gatos são em grande parte determinadas pela taxa de infecção nas populações de aves e roedores locais, que servem como uma fonte de alimento. Após a ingestão da carne pelos gatos, a parede do cisto tecidual é digerida pelas enzimas proteolíticas do estômago e intestino delgado e bradizoítos são liberados. Alguns penetram a lâmina própria do intestino e multiplicam-se como taquizoítos. Dentro de algumas horas, *T. gondii* pode disseminar-se para os tecidos extra-intestinais (DUBEY, 2004). Os bradizoítos liberados também penetram as células epiteliais do intestino delgado e iniciam o desenvolvimento de várias gerações de *T. gondii* (DUBEY et al., 1998), iniciando um ciclo esquizogônico (URQUHART et al., 1998). Os merozoítos liberados por esquizontes dão origem aos gametas masculinos e femininos. O gameta macho tem dois flagelos e penetra o gameta feminino. Após a fecundação, a formação da parede do oocisto começa ao redor do gameta fecundado. Quando os oocistos estão maduros, eles são liberados no lúmen intestinal pela

ruptura das células epiteliais intestinais. *T. gondii* persiste no tecido intestinal e extra-intestinal de gatos por pelo menos vários meses e, possivelmente, por toda a vida do gato (DUBEY, 2004)

Oocistos de *T. gondii* são formados apenas em gatos, incluindo domésticos e felídeos selvagens (DUBEY, 2004). Os gatos jovens podem eliminar oocistos durante cerca de 30 dias, depois dos quais não ocorre mais eliminação (FORTES, 2004). Oocistos em fezes recentes são não-esporulados (não-infectivo) e subesféricos a esféricos na forma com 10 µm x 12 µm de diâmetro. A esporulação ocorre fora do gato e no prazo de 1-5 dias, dependendo da temperatura e aeração. Oocistos esporulados contêm dois esporocistos elipsoidais. Cada esporocisto contém quatro esporozoítos. Os esporozoítos têm 2 µm x 6–8 µm de tamanho (DUBEY et al., 1998).

Hospedeiros, incluindo felídeos podem se infectar por *T. gondii* pela ingestão tanto de tecidos de animais infectados ou alimentos ou água contaminados com oocistos esporulados, ou pela transmissão transplacentária. Após a ingestão, bradizoítos libertados de cistos teciduais ou esporozoítos de oocistos penetram os tecidos intestinais, transformam-se em taquizoítos, multiplicam-se localmente, e são difundidos no corpo pelo sangue ou linfa. Após alguns ciclos de multiplicação, taquizoítos dão origem a bradizoítos em uma variedade de tecidos (DUBEY, 2004). Cistos contendo bradizoítos são a forma latente, sendo a multiplicação mantida sob controle pela imunidade adquirida do hospedeiro. A infecção também pode ocorrer pela ingestão de taquizoítos (URQUHART et al., 1998). Infecção pelo *T. gondii* durante a gestação pode levar à infecção do feto (DUBEY, 2004). Como os equídeos são herbívoros, acredita-se que eles se infectam com *Toxoplasma* pela ingestão de oocistos presentes no ambiente (DUBEY, 2004) ou por transmissão congênita (GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2012).

O ciclo de vida de infecção transmitida por oocistos foi estudado em camundongos. Após a ingestão de oocistos esporulados, esporozoítos são liberados, penetram enterócitos e células caliciformes do epitélio intestinal, e são transportadas para a lâmina própria por meio de um mecanismo desconhecido. Alguns esporozoítos podem ser encontrados em circulação no sangue periférico tão cedo quanto 4 horas após a ingestão. No entanto, a maior parte permanece na lâmina própria, onde se multiplicam em uma variedade de células incluindo o endotélio vascular, fibroblastos, células mononucleares e leucócitos segmentados, mas não em eritrócitos. Edema, necrose da lâmina própria, e descamação da mucosa intestinal pode produzir enterite grave. O agente pode eventualmente se disseminar para todos os outros órgãos (SPEER; DUBEY, 1998).

#### **2.3.4 Sinais Clínicos**

A infecção por *T. gondii* em equinos geralmente é inaparente, sendo caracterizada pela manutenção de títulos de anticorpos e presença de cistos teciduais (LANGONI et al., 2007),

progredindo subclínicamente (AKCA et al., 2004; ALANAZI; ALYOUSIF, 2011). Segundo Dubey e Jones (2008), os equinos são resistentes ao *Toxoplasma gondii* e mostram uma baixa susceptibilidade à doença. No entanto animais jovens e animais com imunodepressão (doentes, gestantes e idosos) são mais susceptíveis à toxoplasmose. Embora a toxoplasmose geralmente provoque infecções subclínicas em cavalos, também pode levar ao surgimento de sinais clínicos, incluindo manifestações neurológicas progressivas, tais como ataxia, paralisia e cegueira (GÜÇLÜ et al., 2007). Em equinos, este parasito está associado com quadros de encefalomielite (BOUGHATTAS et al., 2011).

### 2.3.5 Diagnóstico

O diagnóstico específico é feito por testes sorológicos ou por demonstração dos parasitos em tecidos de camundongos inoculados com material suspeito (URQUHART et al., 1998). Analisando o método de diagnóstico para infecção por *T. gondii* em equídeos constata-se que o teste ouro permanece desconhecido, uma vez que existe um menor número de estudos em equinos quando se compara com outras espécies domésticas (CAMOSSI et al., 2010). No entanto, a PCR pode ser utilizada como um teste de referência para toxoplasmose (SHAAPAN et al., 2012).

O diagnóstico de maior sensibilidade e especificidade é obtido por inoculação intraperitoneal ou intracerebral de material teste em camundongos livres de *Toxoplasma* e a subsequente demonstração de taquizoítos ou bradizoítos em esfregaços de órgãos ou cavidades serosas. Sua desvantagem é que, a menos que a cepa de *Toxoplasma* seja altamente virulenta, requer três semanas antes que o exame dos camundongos produza cistos identificáveis de *Toxoplasma* (URQUHART et al., 1998).

Dois dos testes mais comumente utilizados para identificar a presença de anticorpos são o teste do corante de Sabin-Feldman e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). É preferível a RIFI, pois não requer organismos vivos (URQUHART et al., 1998). O MAT também é um método de diagnóstico bastante utilizado (DUBEY et al., 1999a; 1999b; GHAZY et al., 2007; SHAAPAN et al., 2012). A sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos em equinos são pouco conhecidas (SHAAPAN et al., 2012). No Egito, Ghazy et al. (2007), avaliaram a eficiência diagnóstica do ELISA indireto em comparação com RIFI e MAT no diagnóstico da toxoplasmose em 420 amostras de soro equino. Os resultados revelaram que o ELISA indireto com antígeno purificado fração LAb apresentou a maior eficiência diagnóstica (51,7%), seguido pelo MAT (48,1%) e RIFI (40,5%).

Na literatura consultada os estudos de inquéritos epidemiológicos em outras partes do mundo geralmente utilizam o MAT como método de diagnóstico (DUBEY et al., 1999a; 1999b; SHAAPAN et al., 2012), enquanto no Brasil, a RIFI é mais utilizada (LARANJEIRA et al., 1985; GAZÊTA et al. 1997; VIDOTTO et al., 1997; GARCIA et al., 1999; NAVES et al., 2005; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006; COIRO et al., 2012).

### **2.3.6 Controle**

Não se deve fornecer carne crua a gatos. Nas fazendas, o controle é mais difícil, mas, quando possível, as rações devem ser cobertas para impedir o acesso de gatos (URQUHART et al., 1998). Deve-se controlar a população de gatos, inclusive nas fazendas; os criadores de gatos devem manter os animais dentro de casa e alimentá-los com carne cozida ou seca, ou com ração de boa qualidade; devem-se incinerar todas as fezes dos gatos (KAWAZOE, 2005). Os gatos também não devem ingerir leite cru, devem-se combater os roedores, e realizar exame de fezes dos gatos para pesquisa de esporocistos e oocistos (FORTES, 2004). Para diminuir os riscos de infecção nos equídeos, deve-se fornecer aos animais uma água de boa qualidade, bem como evitar acesso de gatos a fontes de água e instalações onde os animais são mantidos (DUBEY, 2004). Carcaças de animais devem ser enterradas ou incineradas para evitar que felídeos se alimentem (DUBEY; JONES, 2008).

### **2.3.7 Aspecto Zoonótico**

O humano se infecta por três vias principais: 1) Ingestão de oocistos presentes em alimento ou água contaminados, jardins, caixas de areia, latas de lixo; 2) Ingestão de cistos encontrados em carne crua ou mal cozida; 3) Congênita ou transplacentária (KAWAZOE, 2005; DUBEY; JONES, 2008).

Infecções em humanos são geralmente assintomáticas; no entanto, doença grave pode ocorrer em indivíduos imunocomprometidos e recém-nascidos (DUBEY, 2004). A forma mais grave é encontrada em crianças recém-nascidas, sendo caracterizada por encefalite, icterícia, urticária e hepatomegalia, geralmente associada à coriorretinite, hidrocefalia e microcefalia, com altas taxas de morbidade e mortalidade. A toxoplasmose vem apresentando quadro grave de evolução em indivíduos com o sistema imune gravemente comprometido causando encefalite, retinite ou doença disseminativa. Entre o grupo de risco incluem-se os receptores de órgãos, indivíduos em tratamento quimioterápico e aqueles infectados com HIV (KAWAZOE, 2005).

Entre os animais destinados ao consumo foi identificado *Toxoplasma gondii* viável na carne de porco, carneiro, frango e equino (DUBEY et al., 1999a). Um fato muito importante é a

possibilidade de transmissão de cistos *T. gondii* pelo consumo de carne de cavalo (COIRO et al., 2012). A este respeito, há um baixo consumo de carne de cavalo no Brasil, ao contrário da Europa, onde há açougues que se especializam na comercialização de carne equina (por exemplo, na França) (FIDALGO, 2007). Pomares et al. (2011) descrevem três casos de toxoplasmose em humanos na França causados por cepas atípicas, provavelmente adquiridas pela ingestão de carne equina crua importada do Canadá e do Brasil. Na Tunísia, tradicionalmente a carne mal cozida de cavalo é recomendada para mulheres grávidas, podendo aumentar o risco de infecção e de problemas congênitos (BOUGHATTAS et al., 2011).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

- Analisar a situação epidemiológica das infecções por *Brucella* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano.

#### **3.2 Específicos**

- Determinar a prevalência das infecções por *Brucella* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii* em propriedades que criam equídeos na microrregião do Brejo Paraibano;
- Identificar os focos de infecção por *Brucella* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii* na região estudada;
- Identificar os principais sorovares de *Leptospira* spp.;
- Elaborar figuras com a distribuição espacial das infecções por *Brucella* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii*;
- Identificar os fatores de risco associados às infecções por *Brucella* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma gondii*.

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABO-SHEHADA, M. N. Seroprevalence of *Brucella* species in equids in Jordan. **Veterinary Record**, v. 165, p. 267-268, 2009.
- ACOSTA-GONZÁLEZ, R. I.; GONZÁLEZ-REYES, I.; FLORES-GUTIÉRREZ, G. H. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in equines of a tropical region of Mexico. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 70, p. 302–304, 2006.
- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A.P. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 287-296, 2010.
- AGUIAR, D. M. et al. Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do Município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 4, p. 269-276, 2008.
- AKCA A. et al. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in the province of Kars, Turkey. **Veterinární Medicína**, v. 49, p. 9–13, 2004.
- ALANAZI A. D.; ALYOUSIF M. S. Prevalence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Horses in Riyadh Province, Saudi Arabia. **Journal of Parasitology**, v. 97, p. 943-945, 2011.
- ALLEN, C. A.; ADAMS, L. G.; FICHT, T. A. Transposon-Derived *Brucella abortus* Rough Mutants Are Attenuated and Exhibit Reduced Intracellular Survival. **Infection and Immunity**, v. 66, n. 3, p. 1008–1016, 1998.
- AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G. Diagnóstico de brucelose em equinos em uma propriedade rural no município de Sairé/PE. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 10., 2010, Recife. **Anais...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2010.
- ANTUNES, J. M. A. P. et al. Brucelose em cavalos carroceiros de Curitiba e região metropolitana. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ, 11., São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Brasileira dos Médicos Veterinários de Equídeos, 2010.
- ARAUJO, R. R. et. al. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella* spp. em equídeos da região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 681-684, 2009.
- ARELLANO-REYNOSO, B. et. al. Cyclic  $\beta$ -1,2-glucan is a *Brucella* virulence factor required for intracellular survival. **Nature Immunology**, v. 6, n. 6, p. 618-625, 2005.
- ARICAPA, H. J. et al. Prevalencia de brucelosis bovina, equina y humana en Caldas – Colombia - Sur América. **Biosalud**, v. 7, p. 75-87, 2008.
- ARRUDA, F. R. et al. Sorologia da brucelose equina no estado da Paraíba. In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 5., 2010, Patos. **Anais...** Patos: CONERA, 2010. 1 CD.
- ARRUDA, F. R. et al. Brucelose equina no Estado da Paraíba. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 6, n. 1, p. 7-10, 2012.

BALKAYA, I. et al. Seroprevalence of toxoplasmosis in donkeys in Eastern Turkey. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 66, n. 2, p. 39-42, 2011.

BARQUERO-CALVO, E. et al. *Brucella abortus* Uses a Stealthy Strategy to Avoid Activation of the Innate Immune System during the Onset of Infection. **PLoS ONE**, v. 2, n. 7, p. e631, 2007.

BARRIONUEVO, P. et al. *Brucella abortus* Inhibits Major Histocompatibility Complex Class II Expression and Antigen Processing through Interleukin-6 Secretion via Toll-Like Receptor 2. **Infection and Immunity**, v. 76, n. 1, p. 250–262, 2008.

BÁRTOVÁ, E. et al. *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in the Czech Republic. **Parasitology Research**, v. 107, p. 783–785, 2010.

BARWICK, R. S. et al. The prevalence of equine leptospirosis in New York State. **Journal of Equine Science**, v. 9, n. 4, p. 119-124, 1998a.

BARWICK, R. S. et al. Epidemiologic features of equine *Leptospira interrogans* of human significance. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 36, p. 153-165, 1998b.

BAVERUD, V. et al. *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, p. 15, 2009.

BEZERRA, D. C. et al. Pesquisa de aglutininas antileptospira em soros sanguíneos de asininos (*Equus asinus*) e de condutores de veículos de tração animal na cidade de São Luís, MA, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 4, p. 931-937, 2010.

BOUGHATTAS, S. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among horses in Tunisia. **Parasites & Vectors**, v. 4, p. 218, 2011.

BRAGA, J. et al. Ophthalmic alterations in horses with leptospirosis by serovar Icterohaemorrhagiae in Rio de Janeiro, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 147-150, 2011.

BRANDES, K. et al. Recurrent uveitis in horses: vitreal examinations with ultrastructural detection of leptospire. **Journal of Veterinary Medicine, Series A**, v. 54, p. 270-275, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. **Manual de Leptospirose**. 2. ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1995. 98 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)**: Manual Técnico / organizadores, Vera Cecília Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. - Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006. 188 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias**: guia de bolso, 8. ed. rev. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 448 p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/animal/especies/equideos>>. Acesso em 15/09/12.

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

CALDAS, A. D.; RIBEIRO, L. O. C. Ocorrência da brucelose equina no estado de São Paulo causada pela *Brucella abortus*. **O Biológico**, v. 24, n. 3, p. 46-49, 1958.

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

CAMOSSI, L. G.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equinos na região de Botucatu-SP. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, p. 484-488, 2010.

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

CARPIO, M. M.; IVERSEN, J. O. A serological survey of *Leptospira interrogans* serotype *pomona* in Saskatchewan horses. **Canadian Veterinary Journal**, v. 20, p. 127-130, 1979.

CARRAZZA, L. G. et al. Brucelose em Equinos de Tração de Uberlândia – MG. In: SEMINÁRIO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2008, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2008.

CARRAZZA, L. G. et al. Soroepidemiologia da brucelose em equinos de tração em áreas urbanas no município de Uberlândia-MG. **Horizonte Científico**, v. 4, n. 2, 2010.

CHIARELI, D. **Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em equídeos em Minas Gerais, 2003/04**. 2007. 40 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

CHIARELI, D. et al. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em equídeos, em Minas Gerais, 2003 a 2004. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 6, p. 1576-1579, 2008.

COIRO, C. J.; LANGONI, H.; SILVA, R. C. Epidemiological Aspects in the *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* Infection in Horses from Botucatu, São Paulo, Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 10, p. 620-623, 2012.

COSTA, G. M. **Controle das doenças de bovinos: Brucelose e Tuberculose**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2008 - 1ª Ed. 147p.:il. – Curso de Pós-graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância – Defesa Sanitária Animal.

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

CUTLER, S. J.; FOOKS, A. R.; VAN DER POEL, W. H. M. Public Health Threat of New, Reemerging, and Neglected Zoonoses in the Industrialized World. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, 2010.

CVETNIC, Z. et al. Isolation of *Brucella suis* biovar 3 from horses in Croatia. **Veterinary Record**, v. 156, n. 18, p. 584-585, 2005.

DANGOUDOUBIYAM, S. et al. Detection of antibodies against *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp., and *Toxoplasma gondii* in horses from Costa Rica. **Journal of Parasitology**, v. 97, p. 522-524, 2011.

DEEM, A. W. *Brucella abortus* in Horses. **Journal of Bacteriology**, v. 33, n. 1, p. 40-41, 1937.

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

DONAHUE, J. M. et al. Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 3, p. 148-151, 1991.

DONAHUE, J.M. et al. Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1990 foaling season. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 4, p. 279-284, 1992.

DONAHUE, J. M. et al. Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1991-1993 foaling seasons. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 7, p. 87-91, 1995.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites, and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998.

DUBEY, J. P. et al. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Toxoplasma gondii* in wild horses from Central Wyoming. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 716-720, 2003.

DUBEY, J. P. et al. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 235-238, 1999a.

DUBEY, J. P. et al. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 59-62, 1999b.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 57-72, 2004.

DUBEY, J. P.; JONES J. L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p. 1257-1278, 2008.

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

EHIZIBOLO, D. O. et al. Serologic Prevalence of Brucellosis in Horse Stables in Two Northern States of Nigeria. **Journal of Equine Science**, v. 22, n. 1, p. 17-19, 2011.

FABER, N. A. et al. Detection of *Leptospira* spp. in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, p. 2731-2733, 2000.

FEITOSA, M. H.; BITTAR, C. R.; GOMES, S. P. Brucelose: levantamento sorológico no estado de São Paulo no período de 1977 a 1987. **Veterinária e Zootecnia**, v. 3, p. 9-15, 1991.

FIALHO, C. G.; TEIXEIRA, M. C.; ARAÚJO, F. A. P. Toxoplasmose animal no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, p. 1-23, 2009.

FIDALGO, J. Carne eqüina, succulenta e adocicada, começa a chegar aos cardápios de SP. Folha online. **Folha de São Paulo**, 2007. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/comida/ult10005u322417.shtml>>. Acesso em: 05/10/12.

FINGER, M. A. P. **Estudo sorológico e molecular de *Leptospira* spp. em cavalos carroceiros de Curitiba e Pinhais, PR**. 2012. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. 4. ed. rev. e ampl. São Paulo: Ícone, 2004. 607 p.

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

FRAZER, M. L. Acute renal failure from leptospirosis in a foal. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, p. 499-500, 1999.

FREITAS, J. A.; OLIVEIRA, J. P. Pesquisa de infecção brucélica em bovídeos abatidos portadores de bursite. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 427-433, 2005.

GARCÍA-BOCANEGRA, I. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in equids from Southern Spain. **Parasitology International**, v. 61, p. 421-424, 2012.

GARCIA, J. L. et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná - Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, p. 91-97, 1999.

GAZÊTA, G. S. et al. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de eqüinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6, p. 87-91, 1997.

GHAZY, A. A.; SHAAPAN, R. M.; ABDEL-RAHMAN, E. H. Comparative serological diagnosis of toxoplasmosis in horses using locally isolated *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, v. 145, p. 31-36, 2007.

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

- GODOY, A. M.; BARG, L. Aspectos ecológicos da infecção brucélica. 2- Investigação sorológica em cavalos de corrida. **Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG**, v. 28, n. 2, p. 121-123, 1976.
- GOMES, A. H. B. et al. Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em soro de eqüinos no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 3, p. 144-151, 2007.
- GÖZ, Y. et al. Seroprevalence of toxoplasmosis, brucellosis and listeriosis in horses in Hakkari, eastern region of Turkey. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 158, n. 11, p. 534-539, 2007.
- GROSS, A. et al. In Vitro *Brucella suis* Infection Prevents the Programmed Cell Death of Human Monocytic Cells. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 1, p. 342-351, 2000.
- GÜÇLÜ, Z. et al. Investigation of *Toxoplasma gondii* antibodies in sport horses bred in Ankara province. **Türkiye Parazitoloji Dergisi**, v. 31, p. 264-267, 2007.
- GWIDA, M. et al. Brucellosis – Regionally Emerging Zoonotic Disease? **Croatian Medical Journal**, v. 51, p. 289-295, 2010.
- HAJIALILO, E. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sport horses from Qazvin, Iran. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p. 1321-1322, 2010.
- HAMOND, C. et al. Pulmonary hemorrhage in horses seropositive to leptospirosis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 413-415, 2011.
- HAMOND, C. et al. The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area. **Epidemiology and Infection**, 2012a. Disponível em CJO 2012 doi:10.1017/S0950268812000416.
- HAMOND, C.; MARTINS, G.; LILENBAUM, W. Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, n. 8, p. 1927-1930, dez. 2012b.
- HAMOND, C. et al. Rapid and efficient diagnosis of leptospirosis in an aborted foal by PCR of gastric juice. **Veterinary Microbiology**, v. 160, n. 1-2, p. 274-275, 2012c.
- HARTSKEERL, R. A. et al. Classification of *Leptospira* from the eyes of horses suffering from recurrent uveitis. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 51, p. 110-115, 2004.
- HASHIMOTO, V. Y. et al. Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, p. 327-330, 2007.
- HIPÓLITO, O.; SOUZA, R.; GIÓVINE, N. Brucelose e sôro-aglutinação em Minas Gerais. **Arquivos da Escola Superior de Veterinária do Estado de Minas Gerais**, v. 1, p. 31-34, 1943.
- HODGIN, E. C.; MILLER, D. A.; LOZANO, F. Leptospira abortion in horses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 1, p. 283-287, 1989.

- HOGAN, P. M. et al. Acute renal disease due to *Leptospira interrogans* in a weanling. **Equine Veterinary Journal**, v. 28, n. 4, p. 331-333, 1996.
- HONG, C. B. et al. Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and 1989 foaling seasons. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 5, p. 560-566, 1993.
- HOUWERS, D. J. et al. Agglutinating antibodies against pathogenic *Leptospira* in healthy dogs and horses indicate common exposure and regular occurrence of subclinical infections. **Veterinary Microbiology**, v. 148, p. 449-451, 2011.
- JAKUBEK, E. B.; LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. **Veterinary Parasitology**, v. 138, p. 194-199, 2006.
- JARDIM, E. C. et al. Presença de Aglutininas Anti-*Brucella* em Equinos no Estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 8, n. 1, p. 150-155, 1978a.
- JARDIM, E. C. et al. Aglutininas Antileptospira em Equinos no Estado de Goiás. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária da UFGO**, v. 8, n. 1, p. 142-149, 1978b.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6. ed. São Paulo: Editora Manole, 2000.
- JUNG, B. Y.; LEE, K. W.; HA, T. Y. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in Clinically Healthy Racing Horses in Korea. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 72, p. 197-201, 2010.
- KARATEPE, B. et al. Seroprevalence of toxoplasmosis in horses in Nigde Province of Turkey. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p. 385-389, 2010.
- KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D. P. (Ed.) **Parasitologia Humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 494 p.
- KHORASGANI, M. R. et al. Anti-*brucella* antibodies in blood donors in Boushehr, Iran. **Comparative Clinical Pathology**, v. 17, p. 267-269, 2008.
- KITSON-PIGGOT, A. W.; PRESCOTT, J. F. Leptospirosis in horses in Ontario. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 51, p. 448-451, 1987.
- KOUAM, M. K. et al. A seroepidemiological study of exposure to *Toxoplasma*, *Leishmania*, *Echinococcus* and *Trichinella* in equids in Greece and analysis of risk factors. **Veterinary Parasitology**, v. 170, p. 170-175, 2010.
- KREUTZ, L. C.; MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R. Imunidade contra bactérias. In: MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O. (Eds) **Imunodiagnóstico em medicina veterinária**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. p. 47-71.
- LANGENEGGER, J.; SZECHY, A. M. Brucelose dos equídeos domésticos - isolamento de *Brucella abortus* de bursites de cernelha no Brasil. **Arquivos do Instituto de Biologia Animal**, v. 4, p. 49-63, 1961.

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

LANGONI, H. et al. Anti-leptospire agglutinins in equine sera, from São Paulo, Goiás, and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. **The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, p. 207-218, 2004.

LANGONI, H. et al. Utilization of modified agglutination test and indirect immunofluorescent antibody test for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed horses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, p. 27-32, 2007.

LAPAQUE, N. et al. *Brucella* lipopolysaccharide acts as a virulence factor. **Current Opinion in Microbiology**, v. 8, p. 60-66, 2005.

LARANJEIRA, N. L.; ISHIZUKA, M. M.; HYAKUTAKE, S. Prevalência da toxoplasmose equina avaliada pela técnica de imunofluorescência indireta, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 99, p. 158-162, 1985.

LEES, V. W.; GALE, S. P. Titers to *Leptospira* species in horses in Alberta. **Canadian Veterinary Journal**, v. 35, p. 636-640, 1994.

LÉON, A. et al. Identification of pathogenic *Leptospira* strains in tissues of a premature foal by use of polymerase chain reaction analysis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 18, p. 218-221, 2006.

LILENBAUM, W. Leptospirosis on animal reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brazil (1993- 1996). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, p. 61-63, 1998.

LINHARES, G. F. C. et al. Sorovares de *Leptospira interrogans* e respectivas prevalências em cavalos da Microrregião de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 6, p. 255-259, 2005.

LOCATELLI-DITTRICH, R. et al. Investigation of *Neospora* sp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana State, Southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 215-221, 2006.

LUCCHESI, P. M. A.; PARMA, A. E. A DNA fragment of *Leptospira interrogans* encodes a protein which shares epitopes with equine cornea. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 71, p. 173-179, 1999.

LUCCHESI, P. M. A.; PARMA, A. E.; ARROYO, G. H. Serovar distribution of a DNA sequence involved in the antigenic relationship between *Leptospira* and equine cornea. **BMC Microbiology**, v. 2, p. 3, 2002.

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

MACIEL, R. M. et al. Incidência de aglutininas anti-Leptospira em soro de eqüinos utilizados na tração de carroças no município de Santa Maria-RS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Anais...** Gramado, 2008.

- MANTUR, B. G.; AMARNATH, S. K. Brucellosis in India – a review. **Journal of Biosciences**, v. 33, n. 4, p. 539–547, 2008.
- MATHIAS, L. A.; COSTA, M. Brucelose bovina e equina. In: CORREA, F. R. et al. **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. Vol. I, cap. 3, p. 225-240.
- MENDONÇA, A. O. et al. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. **Semina. Ciências Agrárias**, v. 22, p. 115-118, 2001.
- MYERS, D. M. Serological studies and isolations of serotype *hardjo* and *Leptospira biflexa* strains from horses of Argentina. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 3, p. 548–555, 1976.
- NAVES, C. S. et al. Soroprevalência da toxoplasmose em equinos da raça mangalarga marchador no município de Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, v. 11, p. 45-52, 2005.
- OCHOLI, R. A. et al. Carpal bursitis associated with *Brucella abortus* in a horse in Nigeria. **Veterinary Record**, v. 155, p. 566-567, 2004a.
- OCHOLI, R. A. et al. Phenotypic characterization of *Brucella* strains isolated from livestock in Nigeria. **Veterinary Microbiology**, v. 103, p. 47–53, 2004b.
- ODONTSETSEG, N. et al. Serological prevalence of *Leptospira interrogans* serovar Bratislava in horses in Mongolia. **Veterinary Record**, v. 157, p. 518-519, 2005.
- OIE. Leptospirosis. In: \_\_\_\_\_. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2012**. Office International des epizooties, 2008. Volume 1, p. 251-264. Disponível em: <[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.01.09\\_LEPTO.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.09_LEPTO.pdf)>. Acesso em: 19 jul. 2012.
- OLIVEIRA, E. et al. Occurrence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Mules and Donkeys in the Northeast of Brazil. **Journal of Parasitology**, 2012. No prelo. doi: <http://dx.doi.org/10.1645/GE-3210.1>.
- OLIVEIRA, Q. C.; MOREIRA, W. S.; LIMA, C. S. Brucelose em equinos. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v. 3, n. 1-4, p. 111-120, 1973.
- OLIVEIRA, S. J.; PIRES NETO, J. A. S. Aspectos etiológicos e de diagnóstico nas leptospiroses. **Revista CFMV**, v. 10, n. 33, p. 36-46, 2004.
- PACHECO, G. Brucelose equina no Brasil. **Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 14, p. 3-5, 1945.
- PANIAGUA, J. G. **Prevalencia de brucelosis equina (Provincia German Busch– Dpto. de Santa Cruz)**. 2002. 69 p. Trabalho de conclusão de curso (Médico Veterinario Zootecnista) - Universidad Autonoma Gabriel Rene Moreno, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- PAPPAS, G. et al. The new global map of human brucellosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 6, p. 91-99, 2006.

- PARK, Y. G. et al. Factors for seropositivity to leptospirosis in horses. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 13, p. 121-127, 1992.
- PARMA, A. E. et al. Experimental demonstration of an antigenic relationship between *Leptospira* and equine cornea. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 10, p. 215-224, 1985.
- PARMA, A. E. et al. Tears and aqueous humor from horses inoculated with *Leptospira* contain antibodies which bind to cornea. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 14, p. 181-185, 1987.
- PARMA, A. E.; CERONE, S. I.; SANSINANEIA, S. A. Biochemical analysis by SDS-PAGE and Western blotting of the antigenic relationship between *Leptospira* and equine ocular tissues. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 33, p. 179-185, 1992a.
- PARMA, A. E. et al. C3 fixed in vivo to cornea from horses inoculated with *Leptospira interrogans*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 34, p. 181-187, 1992b.
- PARMA, A. E. et al. Detection of an Antigenic Protein of *Leptospira interrogans* which shares Epitopes with the Equine Cornea and Lens. **The Veterinary Journal**, v. 153, p. 75-79, 1997.
- PAULIN, L. M. Brucelose. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 2, p. 239-249, 2003.
- PEARCE, J. W. et al. Detection of *Leptospira interrogans* DNA and antigen in fixed equine eyes affected with end-stage equine recurrent uveitis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 19, p. 686-690, 2007.
- PESCADOR, C. A. et al. Aborto equino por *Leptospira* sp. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 271-274, 2004.
- PINNA, A. E. et al. Molecular diagnostics of leptospirosis in horses is becoming increasingly important. **Veterinary Microbiology**, v. 153, p. 413, 2011.
- POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 90, p. 55-62, 2002.
- POMARES, C. et al. Toxoplasmosis and Horse Meat, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, p. 1327-1328, 2011.
- POONACHA, K. B. et al. Leptospirosis in equine fetuses, stillborn foals and placentas. **Veterinary Pathology**, v. 30, p. 362-369, 1993.
- PORTUGAL, M. A. S. C. et al. Brucelose em equídeos determinada por *Brucella suis*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 38, n. 3, p. 125-132, 1971.
- RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 778 – 791.
- REFAI, M. Incidence and control of brucellosis in the Near East region. **Veterinary Microbiology**, v. 90, p. 81–110, 2002.

RIBEIRO, M. G. et al. Aglutininas anti-*Brucella abortus* no soro e em secreção de bursite cervical em eqüinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 1, p. 99-101, 2003.

RIBEIRO, M. G.; MOTTA, R. G.; ALMEIDA, C. A. S. Brucelose eqüina: aspectos da doença no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 2, p. 83-92, 2008.

ROCHA, T. et al. Microbiological and serological study of leptospirosis in horses at slaughter: first isolations. **Research in Veterinary Science**, v. 76, p. 199-202, 2004.

ROHRBACH, B. W. et al. Effect of vaccination against leptospirosis on the frequency, days to recurrence and progression of disease in horses with equine recurrent uveitis. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, p. 171–179, 2005.

ROOP II, R. M. et al. Survival of the fittest: how *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 198, n. 4, p. 221–238, 2009.

SALCEDO, S. P. et al. *Brucella* control of dendritic cell maturation is dependent on the TIR-containing protein Btp1. **PLoS Pathogens**, v. 4, n. 2, p. e21, 2008.

SANTOS, C. S. et al. Inquérito sorológico da ocorrência de leptospirose em equídeos da microrregião de Itaguaí no estado do Rio de Janeiro-RJ. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 2, p. 96-100, 2012.

SHAAPAN, R. M. et al. PCR and Serological Assays for Detection of *Toxoplasma gondii* Infection in Sport Horses in Cairo, Egypt. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 7, p. 158-165, 2012.

SHANAHAN, L. M.; SLOVIS, N. M. *Leptospira interrogans* Associated with Hydrallantois in 2 Pluriparous Thoroughbred Mares. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, p. 158–161, 2011.

SHEORAN, A. S. et al. Antibody isotypes in sera of equine fetuses aborted due to *Leptospira interrogans* serovar Pomona type kennewicki infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 77, p. 301–309, 2000.

SILVA, L. A. F. et al. Soroprevalência de Brucelose em Eqüinos com Bursite cervical ou nugal. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 4, n. 1, p. 19–23, 2001.

SILVA, L. A. F. et al. Brucelose em eqüino portador de bursite fistulosa de cernelha – relato de caso. **Veterinária Notícias**, v. 12, n. 2, p. 38, 2006.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P. Ultrastructure of early stages of infection in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Parasitology**, v. 116, n. 1, p. 35–42, 1998.

STARK, C. B. et al. Pesquisa de anticorpos anti-Brucela em animais de tração atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal de Pelotas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Anais...** Gramado, 2008.

- TAHAMTAN, Y. et al. Prevalence of Brucellosis in Horse North-East of Iran. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 30, n. 7, p. 376-377, 2010.
- TEL, O. Y.; ARSERIM, N.B.; KESKIN, O. Seroprevalence of Equine Brucellosis in Southeast Turkey. **YYU Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 22, n. 3 p. 181–183, 2011.
- TENGELSEN L. A. et al. A 12-year retrospective study of equine abortion in Michigan. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, p. 303-306, 1997.
- THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos cavalos**. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2005. 573 p.
- THRUSFIELD, M. V. **Veterinary epidemiology**. 3. ed. Blackwell Science, 2005. 610 p.
- TIMONEY, J. F. et al. A unique genotype of *Leptospira interrogans* serovar Pomona type kennewicki is associated with equine abortion. **Veterinary Microbiology**, v. 150, p. 349–353, 2011.
- TURK, R. et al. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase and paraoxonase-1 activity in horses infected with *Leptospira* spp. **Acta Tropica**, v. 118, p. 97–100, 2011.
- TZANEVA, V. et al. Investigation of the spread of brucellosis among human and animal populations in southeastern Bulgaria, 2007. **Eurosurveillance**, v. 14, n. 17, p. 1–5, 2009.
- URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. Guanabara Koogan, 1998. 273 p.
- VAN DEN INGH, T. S. G. A. M.; HARTMAN, E. G.; BERCOVICH, Z. Clinical *Leptospira interrogans* serogroup *Australis* serovar *lora* infection in a stud farm in the Netherlands. **Veterinary Quarterly**, v. 11, n. 3, p. 175-182, 1989.
- VASCONCELLOS, S. A. Leptospirose Animal. In: SIMPÓSIO DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2., 2006, Chapecó. **Anais...** Chapecó, 2006.
- VEMULAPALLI, R. et al. Molecular detection of *Leptospira kirschneri* in tissues of a prematurely born foal. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, p. 67-71, 2005.
- VERMA, A. et al. LruA and LruB, novel lipoproteins of pathogenic *Leptospira interrogans* associated with equine recurrent uveitis. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 7259–7266, 2005.
- VERMA, A. et al. Cross-Reactivity of Antibodies against Leptospiral Recurrent Uveitis-Associated Proteins A and B (LruA and LruB) with Eye Proteins. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 8, p. e778, 2010. doi:10.1371/journal.pntd.0000778.
- VIANA, F. C.; REIS, R.; SANTOS, W. L. M. Inquérito sorológico para brucelose eqüina em Minas Gerais. **Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG**, v. 33, n. 3, p. 431-435, 1981.
- VIDOTTO, O. et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos procedentes de quatro estados (SP, PR, MS e MT) abatidos em Apucarana, PR. **Semina. Ciências Agrárias**, v. 18, n. 1, p. 9-13, 1997.

- VITOR, R. W. A. Protozoa. In: NEVES, D. P. (Ed.) **Parasitologia Humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 494 p.
- WADA, S. et al. Nonulcerative keratouveitis as a manifestation of Leptospiral infection in a horse. **Veterinary Ophthalmology**, v. 6, p. 191–195, 2003.
- WADOOD, F. et al. Seroprevalence of brucellosis in horses in and around Faisalabad. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 29, n. 4, p. 196-198, 2009.
- WEIGEL, R. M. et al. Risk Factors for infection with *Toxoplasma gondii* for residents and workers on swine farms in Illinois. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, p. 793–798, 1999.
- WHITWELL, K. E. et al. Two cases of equine pregnancy loss associated with *Leptospira* infection in England. **Veterinary Record**, v. 165, p. 377–378, 2009.
- WILKIE, I. W. et al. Giant cell hepatitis in four aborted foals: a possible leptospiral infection. **Canadian Veterinary Journal**, v. 29, p. 1003-1004, 1988.
- WINN JR., W. C. et al. **Koneman, diagnostico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 1565 p.
- YAN, W. et al. Experimental *Leptospira interrogans* Serovar Kinnewicki Infection of Horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 4, p. 912-917, 2010.
- ZICKER, S. C. Fístula de cernelha. In: SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3. ed. Barueri: Manole, 2006. cap. 36, p. 1132-1133.

## **5 ARTIGOS CIENTÍFICOS**

### **5.1 ARTIGO 1**

#### **ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA INFECCÃO POR *Leptospira* spp. EM EQUÍDEOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO, BRASIL**

**(Artigo a ser enviado para o periódico Journal of Equine Veterinary Science)**

## **Análise epidemiológica da infecção por *Leptospira* spp. em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano, Brasil**

### **RESUMO**

Objetivou-se com o estudo analisar a situação epidemiológica da infecção por *Leptospira* spp. em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano, região Nordeste do Brasil. Foram analisadas 257 amostras de equídeos (204 equinos, 46 muares e sete asininos) em 26 propriedades. Para o diagnóstico sorológico utilizou-se a Soroaglutinação Microscópica (SAM), empregando 24 sorovares de *Leptospira* spp. como antígenos, e um ponto de corte de 1:100. A prevalência foi de 15,9% (I.C. 11,7 – 21,0). Em relação às espécies observou-se uma prevalência de 16,2% (equinos), 13,0% (muares) e 28,6% (asininos). O número de focos encontrado foi de 76,9%. Na análise dos fatores de risco pela regressão logística identificou-se como fator de proteção a variável idade, onde os animais com idade entre 2,5 e 11 anos tiveram risco de infecção 0,4 vezes menor do que aqueles com menos de 2,5 anos. Este é o primeiro registro da infecção por *Leptospira* spp. em equídeos nessa microrregião do estado da Paraíba. Para diminuir os riscos de infecção nestas espécies, os cuidados sanitários devem ser reforçados, principalmente em propriedades com maior quantidade de animais, bem como se deve evitar acesso de roedores e outros animais que possam atuar como reservatórios de *Leptospira* spp. a fontes de água e instalações onde os animais são mantidos.

Palavras-chave: equídeos; fatores de risco; leptospirose; sorologia.

### **1. Introdução**

A leptospirose é uma zoonose que ocorre em diversas espécies animais, como bovinos, suínos, equinos, cães, roedores, animais silvestres e seres humanos. Está distribuída por todo o mundo, mas determinados sorovares de *Leptospira* spp. são encontrados com maior frequência em determinada área geográfica ou em determinadas espécies animais [1]. As principais manifestações clínicas nos animais de produção estão relacionadas a problemas reprodutivos, como abortamento no final da gestação, problemas de infertilidade e nascimento de animais debilitados [2].

O agente é mantido na natureza por animais com infecção crônica e pela presença de leptospiras nos túbulos renais de hospedeiros de manutenção. Nestes, a infecção é mantida independentemente das condições ambientais [1]. Hospedeiro de manutenção, sinônimo de reservatório, é aquele em que um agente infeccioso normalmente vive e se multiplica, e, portanto, é uma fonte comum de infecção para outros animais [3]. Portanto, em determinada região, um sorovar de leptospiras será adaptado para infectar uma ou mais espécies animais [1].

Nos equídeos, a leptospirose se manifesta por uveíte recorrente, abortamentos e outros distúrbios reprodutivos. Evolui geralmente como doença aguda ou crônica, individual ou de grupo de animais, sendo que a maioria das infecções apresenta caráter inaparente [4]. O teste sorológico é o procedimento laboratorial mais utilizado para confirmar o diagnóstico clínico, para determinar a prevalência do rebanho, e realizar estudos epidemiológicos [5].

Exames sorológicos para detecção de anticorpos anti- *Leptospira* spp. em equídeos foram realizados em vários países. Nos Estados Unidos, títulos sorológicos em equinos foram encontrados para os sorovares Bratislava, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Pomona, Australis, Ballum e Bataviae [6,7]. Na Argentina o sorovar predominante foi o Pyrogenes [8]. Na Europa, Rocha et al. [9] encontraram 37% de cavalos com títulos maiores ou iguais a 1:10 na Soroaglutinação Microscópica (SAM) em Portugal, e na Suécia Baverud et al. [10] encontraram os sorovares Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Sejroe, Pomona e Grippotyphosa. Na Ásia, prevalência de 25,0% foi obtida na Coreia [11], e na Mongólia a predominância foi do sorovar Bratislava [12]. No Brasil os dados existentes em equídeos revelam prevalências variando de 5,9% a 100,0% [1,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23].

Em função de o Brasil apresentar o maior rebanho de equinos na América Latina e da importância da leptospirose para a saúde pública, objetivou-se com esse estudo analisar a situação epidemiológica da infecção por *Leptospira* spp. em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano.

### **2. Material e Métodos**

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco com a licença nº 036/2012.

A microrregião do Brejo Paraibano está inserida na mesorregião do Agreste, e é composta por oito municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria [24]. Foi

realizado um estudo transversal para determinar a prevalência e o plano amostral foi dividido em dois estágios. No primeiro estágio, foram selecionadas todas as propriedades com criação de dez ou mais equídeos (unidades primárias de amostragem), visto que, são essas propriedades que realmente fazem parte da cadeia produtiva da equideocultura, totalizando 26 propriedades; no segundo, foi sorteado, de forma aleatória, um número pré-estabelecido de equídeos (unidades secundárias de amostragem). A amostra de cada propriedade foi calculada com o auxílio do programa Win Episcopo 2.0. Para compor a amostra do estudo da prevalência foi considerada uma prevalência de 50%, visto que não há dados sobre a ocorrência desta infecção nesta microrregião. Em cada propriedade também foi considerado um nível de confiança de 95% e erro estatístico de 10%. Desta forma, foram coletadas 257 amostras sanguíneas de equídeos (equinos, asininos e muares) clinicamente saudáveis, de diferentes sexos e finalidade, no período compreendido entre julho e dezembro de 2011, correspondendo às estações do ano do inverno e primavera.

Apenas um dos oito municípios da microrregião não foi amostrado, pois, segundo o cadastro, não havia propriedades que atendessem ao critério de seleção de pelo menos dez equídeos. Os municípios pesquisados foram: Areia (n=42; 28 equinos, 1 asinino e 13 muares), Serraria (n=13; 9 equinos e 4 muares), Alagoa Grande (n=67; 54 equinos, 2 asininos e 11 muares), Bananeiras (n=108; 93 equinos, 03 asininos e 12 muares), Pilões (n=3; 3 muares), Borborema (n=7; 4 equinos, 1 asinino e 2 muares) e Alagoa Nova (n=17; 16 equinos e 1 muar).

Os equídeos eram criados a campo, semi-estabulados ou estabulados. Em relação à raça, os animais testados eram sem raça definida (SRD) (152), Quarto-de-milha (15), mestiços de Quarto-de-milha (74) e Manga-larga (16). Nesta microrregião, os equídeos são utilizados com as finalidades de esporte (vaquejada), reprodução, trabalho ou lazer. As idades dos animais foram agrupadas em três estratos: abaixo de 2,5 anos de idade (animais jovens), entre 2,5 e 11 anos (animais em idade reprodutiva) e acima de 11 anos (animais idosos). Quanto ao sexo 116 eram fêmeas e 141 machos.

Os 257 soros foram examinados pelo teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM), de acordo com as normas do Ministério da Saúde [25] e recomendado pela Organização Mundial de Sanidade Animal como prova de escolha para o diagnóstico da leptospirose [5]. Os antígenos usados foram culturas vivas recentes de cepas de referência de 24 sorovares (sv) patogênicos de *Leptospira* spp.: Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Javanica, Canicola, Castellonis, Pyrogenes, Cynopteri, Autumnalis, Sentot, Djasiman, Australis, Pomona, Hebdomadis, Wolffi, Saxkoebing, Batavie, Tarassovi, Panama, Celledoni, Shermani, Bratislava, Hardjo, Grippotyphosa e Sejroe.

O soro que, na prova de triagem, mostrou uma redução do número de leptospiros livres da ordem de 50 a 100% em relação ao controle foi submetido à prova de titulação, em diluições consecutivas e ao dobro. Um título  $\geq 1:100$  foi considerado positivo [10,26]. Foi considerada como ponto final de reação a mais alta diluição do soro capaz de aglutinar 50% ou mais das leptospiros em relação ao controle.

Nenhum dos animais tinha sido vacinado contra leptospirose. Em relação às propriedades, considerou-se a prevalência como nula quando não houve animais reagentes, baixa quando menor que 25%, média quando entre 25% e 50%, e alta quando maior que 50%. O provável sorovar infectante na propriedade foi considerado aquele que apresentou maior título.

Em cada propriedade amostrada foram aplicados questionários epidemiológicos, elaborados para obter informações sobre o tipo de exploração e as práticas de manejo empregadas, de forma a permitir a realização do estudo de fatores de risco. No total, 22 variáveis foram incluídas na análise. As variáveis foram agrupadas por: a) dados individuais: espécie (equino, asinino e muar), faixa etária (<2,5 anos, 2,5-11 anos e >11 anos) e sexo (macho e fêmea), b) dados do rebanho: área (rural e peri-urbana), tamanho do rebanho (<10, 10-30 e >30), presença de animais silvestres, criação consorciada com outros animais, sistema de criação (a campo, semi-estabulado e estabulado), suplementação alimentar, fornecimento de feno, fontes de água (parada, corrente e parada+corrente), acesso à água de superfície e a pastos alagados, c) biossegurança: limpeza e desinfecção, aluguel de pasto, tipo de rebanho (aberto e fechado), procedência dos animais (comerciantes, leilão/exposição e ambos), quarentena, presença de roedores, acesso de roedores ao armazém de ração e controle de roedores.

Foi utilizada a análise estatística descritiva para cálculos das frequências relativa e absoluta dos resultados obtidos no teste sorológico. Para identificar os fatores de risco associados à infecção, foi realizada uma análise univariada das variáveis de interesse através do teste qui-quadrado de Pearson, ou Exato de Fisher, quando necessário. Posteriormente foi realizada uma análise de regressão logística, considerando como variável dependente o exame sorológico (positivo ou negativo). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística  $<0,20$ . Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise [27]. A propriedade foi considerada como foco quando foi detectado pelo menos um animal positivo. O programa Epi Info, versão 3.5.1 - *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*, foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos.

Para espacialização no mapa da microrregião do Brejo Paraibano utilizaram-se as coordenadas planas obtidas através do georreferenciamento de cada propriedade por meio do Sistema de Posicionamento Global (GPS), o qual foi configurado para fornecer as posições com coordenadas planas na projeção UTM (Universal Transverse Mercator), no Sistema SAD-69 (South American Datum de 1969), correspondente ao sistema de coordenadas da Base Cartográfica da microrregião do Brejo Paraibano. Dados de pluviosidade do ano em que foi realizada a amostragem foram obtidos na Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba [28] e nas propriedades que realizavam a aferição da precipitação. O valor de precipitação utilizado foi o maior encontrado no município. Para o mapeamento e a identificação dos aglomerados espaciais, os dados georreferenciados foram lançados no software TerraView 3.1.3 [29], empregando-se o estimador de intensidade Kernel, que consiste em técnica não paramétrica que possibilita filtrar a variabilidade de um conjunto de dados, retendo as características essenciais locais dos dados [30].

### 3. Resultados

Neste estudo foi determinada uma prevalência geral de 15,9% (I.C. 11,7 - 21,0%) para infecção por *Leptospira* spp. em equídeos, com títulos variando de 1:100 a 1:800 para um ou mais sorovares (Tabela 1). A prevalência foi de 16,2% para os equinos, 13,0% para os muares e 28,6% para os asininos. A prevalência nas propriedades positivas variou de 5,9 a 100,0%. Dos sete municípios pesquisados, todos (100,0%) possuíam animais positivos. As soroprevalências nos municípios amostrados foram: 33,3% em Pilões (1/3); 28,6% em Borborema (2/7); 19,4% em Alagoa Grande (13/67); 15,4% em Serraria (2/13); 14,8% em Bananeiras (16/108); 14,3% em Areia (6/42); e 5,9% em Alagoa Nova (1/17). Em relação ao número de focos constatou-se que 76,9% (20/26) das propriedades possuíam pelo menos um animal infectado. Das 20 propriedades consideradas como focos, 14 (70,0%) apresentaram baixa prevalência, cinco (25,0%) média, e uma (5,0%) alta (Figura 1).

Entre as amostras positivas, 34 (82,9%) reagiram para apenas um sorovar, e sete para mais de um. A maioria (67,3%) dos títulos foi de 1:100. As maiores soroprevalências para todos os equídeos investigados foram encontradas para os sorovares Panama (6,2%), Grippotyphosa (3,5%) e Pyrogenes (3,5%). A prevalência para os outros sorovares variou de 0,0% a 1,6%. O maior título (1:800) só foi observado para os sorovares Hardjo e Pyrogenes. O sorovar Panama, com 38,5% de propriedades positivas, foi o sorovar mais prevalente também em relação ao número de focos, seguido pelos sorovares Pyrogenes e Grippotyphosa (Tabela 2). A distribuição dos sorovares por propriedades está representada na Figura 2.

Quanto à idade observou-se que todos os animais positivos tinham idade variando entre quatro meses e 26 anos. Analisando os resultados por estrato etário, constatou-se que 27,9% de soropositividade foi observada nos equídeos com menos de 2,5 anos; 13,5% entre 2,5 e 11 anos; e 13,7% acima de 11 anos. Maior proporção de baixos títulos foi observada em animais mais velhos. Quanto ao sexo, 18 (15,5%) fêmeas e 23 (16,3%) machos foram soropositivos.

Ao analisar os fatores de risco na análise univariada observou-se que a variável criação consorciada ( $p=0,025$ ) apresentou associação significativa (Tabelas 3 e 4). Na regressão logística das variáveis observou-se que a idade foi um fator de proteção, pois para os animais que possuíam entre 2,5 e 11 anos o risco de infecção foi 0,4 vezes menor do que para aqueles animais com menos de 2,5 anos (OR 0,4; I.C. 0,18 - 0,90).

A precipitação pluviométrica nos municípios e as prevalências de cada propriedade estão apresentadas na Figura 3. A época de maior precipitação no ano da amostragem ocorreu entre os meses de abril e julho [28]. O estimador de intensidade Kernel está representado na Figura 4.

### 4. Discussão

Este é o primeiro estudo epidemiológico na microrregião do Brejo Paraibano a analisar a infecção por *Leptospira* spp. em equídeos. Por causa da natureza zoonótica das leptospiros é importante conhecer a prevalência e os sorovares predominantes na população equídea, considerando as diferenças entre regiões e espécies. A utilização da SAM para detecção dos anticorpos anti-*Leptospira* spp. em 257 soros de equídeos, provenientes de 26 propriedades permitiu a visualização da abrangência e da distribuição de animais reagentes para *Leptospira* spp. na microrregião do Brejo Paraibano e as sorovarietades predominantes. Nesta microrregião, 15,9% foram positivos na SAM. Estudos realizados em diversas partes do mundo revelaram prevalências que variam de 12,8% a 79,0% [7,8,9,11,12,31,32,33,34]. No Brasil, resultados próximos ao do presente trabalho foram obtidos por Jardim et al. [13] em Goiás (14,4%), Gomes et al. [17] na Bahia (23,0%), Coiro et al. [35] em Botucatu (São Paulo) (17,9%) e Finger [36] (15,0%) na SAM. Nos inquéritos sorológicos realizados em outros estados por diversos autores foram encontrados elevados percentuais de animais reagentes [1,14,15,16,18,19,22,23,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46]. Em Minas Gerais encontrou-se prevalência menor do que no presente estudo: 5,9% (381/6475) [20]. Em um município da Paraíba, Favero et al. [47]

encontraram 12,8% de equinos positivos. Estes resultados indicam que a infecção por *Leptospira* spp. em equídeos ocorre com frequência considerável, variando de acordo com a região estudada e as possíveis fontes de infecção.

A diferença de prevalência entre os estudos realizados pode ser devido à área de estudo, amostragem realizada, condições ambientais, técnica empregada e interpretação dos resultados quanto ao ponto de corte utilizado. Outros fatores também podem influenciar nos resultados, tais como: tipo de criação (extensiva, semi-intensiva e intensiva), tipo de alimentação (com ou sem suplementação), fonte de água, número e tipos de sorovares empregados para a avaliação sorológica, suspeita clínica de leptospirose nos animais estudados, manejo higiênico-sanitário e presença de outras espécies de animais.

O maior título (800) só não foi encontrado na espécie asinina. Este fato pode ser justificado pela totalidade dos asininos terem idade entre 2,5 e 11 anos, que foi considerada um fator de proteção, provavelmente diminuindo a exposição desses animais ao agente.

Ao analisar a prevalência por espécie, observou-se que 16,2% (33/204) dos equinos, 13,0% (6/46) dos muares e 28,6% (2/7) dos asininos foram positivos. Esses resultados diferem dos encontrados por Shimabukuro et al. [37], que encontraram menor prevalência entre os asininos, e sugerem uma possível resistência dessa espécie ou diferença de manejo, estando menos expostos a ambientes contaminados e roedores, como causas da diferença estatística observada entre as espécies. A maior prevalência em asininos observada neste estudo pode ser justificada pelo fato de esses animais possuírem menor valor zootécnico na região estudada, e conseqüentemente os proprietários não despendem muitos cuidados sanitários com esses animais. Também em virtude do baixo valor zootécnico, esses animais geralmente não são mantidos estabulados. Neste sentido, constatou-se uma menor prevalência em animais mantidos estabulados (0,0%) versus aqueles mantidos semi-estabulados (14,5%) ou a campo (18,8%), embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas. Tendo acesso ao pasto, esses animais podem estar expostos a áreas alagadas, água de superfície, animais silvestres bem como ser criados juntamente com outras espécies. Observou-se neste estudo que os animais expostos a essas variáveis apresentaram maiores prevalências, embora não tenham sido estatisticamente significativas. Em um estudo realizado por Lees e Gale [26] foi demonstrado que os cavalos manejados individualmente tiveram metade da probabilidade de serem positivos se comparados aos cavalos manejados em grupos. Segundo Baverud et al. [10], animais mantidos individualmente podem ser menos expostos a excreções de outros cavalos. Neste trabalho não foi perguntado se os animais eram mantidos individualmente ou em grupos, mas animais estabulados na microrregião do Brejo Paraibano geralmente são manejados de forma individual.

O elevado número de focos, 76,9%, possibilita sugerir que a infecção por *Leptospira* spp. está amplamente distribuída na microrregião do Brejo Paraibano, sendo necessários outros estudos para classificá-la como enzoótica. Aguiar et al. [19] também encontraram grande porcentagem de propriedades positivas (82,0%). A infecção foi detectada em todos os municípios pesquisados da microrregião, com prevalências variáveis entre as propriedades. Especificamente, os municípios de Pilões e Borborema apresentaram as maiores prevalências, que podem ser justificadas pelo fato de todos os animais amostrados nesses municípios serem criados de forma consorciada com outras espécies. Por outro lado, a menor prevalência foi observada no município de Alagoa Nova, que apresentou a menor precipitação, conforme a Figura 3. Odontsetseg et al. [12] observaram maior prevalência em ambiente úmido do que em área seca. Finger [36] observou correlação positiva entre pluviosidade e sorologia. As diferenças regionais na prevalência podem ser parcialmente relacionadas às condições climáticas. As leptospiros eliminadas por animais infectados podem permanecer infectantes por longos períodos de tempo em climas úmidos [11], tendo menos chance de infectar os animais em locais mais secos. No entanto observa-se que, independentemente da pluviosidade, foram observadas animais positivos em todos os municípios pesquisados, com prevalências variáveis entre as propriedades, não havendo, portanto, neste estudo, relação entre pluviosidade e prevalência, podendo outros fatores estarem envolvidos.

Foi encontrada maior prevalência de animais positivos no ambiente rural comparada com a de animais em áreas peri-urbanas. Isto pode ser justificado pela maior possibilidade de criação consorciada com outras espécies e contato com animais silvestres em áreas rurais, favorecendo a transmissão do agente. Esses dados corroboram com os resultados de Siqueira [48], considerando áreas rurais e urbanas.

Maior prevalência foi observada em animais com acesso a água de superfície e pastos alagados, apesar de não ter havido associação significativa. Jorge et al. [43] observaram alta prevalência em equinos que percorriam longas distâncias em uma região com extenso período de inundação, e sugerem que os equinos podem atuar como hospedeiros de manutenção, sem no entanto informar para qual sorovar. Hamond et al. [49] também encontraram alta prevalência em equinos criados em uma área sujeita a constantes inundações, o que favorece a transmissão do agente. Em particular, a água de superfície proporciona um ambiente adequado para a sobrevivência de leptospiros por longos períodos de tempo [32]. Segundo Finger [36], inundações são um fator de risco para o contato de cavalos com *Leptospira* spp.

No presente estudo, 12 de 24 sorovares contidos na coleção de antígenos foram detectados nos equídeos examinados. Não era esperado que a soroprevalência para os equídeos neste estudo fosse maior para o sorovar Panama, pois são poucos os estudos que incluem este sorovar nos testes com equídeos [13,22,40,43,47,48], e poucos os trabalhos com resultados positivos para este sorovar em equídeos [22,40]. Favero et al. [47] observaram que este sorovar foi um dos mais frequentes em caprinos na Paraíba, e por isso deve-se investigar a importância epidemiológica dessa espécie, principalmente porque este estado possui grande importância na cadeia produtiva da caprinocultura. Este sorovar está bem distribuído na microrregião, sendo encontrado em 71,4% dos municípios pesquisados neste estudo.

O sorovar Hardjo tem os bovinos como hospedeiros de manutenção [25]. Os equídeos nesse caso seriam os hospedeiros acidentais para tal sorovar [2]. Nesse estudo, os animais positivos para este sorovar eram criados de forma consorciada com bovinos ou eram procedentes de rebanhos abertos, podendo ter se infectado em outra propriedade onde eventualmente tivessem contato com bovinos. Este sorovar só foi encontrado em dois municípios, os quais eram contíguos.

Neste trabalho não foram encontrados animais reagentes ao sorovar Pomona, mas títulos positivos para este sorovar já foram relatados no Brasil por alguns autores: Lilenbaum [14] no Rio de Janeiro, Shimabukuro et al. [37] na Bahia, Linhares et al. [16] em Goiás. Este sorovar geralmente é associado à doença clínica e patológica em equinos [6]. Sua positividade foi associada com casos de aborto equino nos Estados Unidos, onde Donahue et al. [50] isolaram a sorovarietade Kennewicki do sorogrupo pomona em 43 casos e em uma amostra foi identificada um sorovar similar ao pomona. O sorovar Pomona é mantido em bovinos e suínos, e o cavalo é um hospedeiro acidental [14].

O sorovar Bratislava não foi encontrado nesta investigação, mas a soroprevalência nos estudos de Oliveira e Pires Neto [1], Aguiar et al. [19] e Baverud et al. [10] foi maior para este sorovar. Em outras investigações a soroprevalência também foi maior para o sorovar Bratislava do que para outros sorovares, e o cavalo tem sido sugerido como um reservatório para este sorovar [7,31,51,52]. No trabalho de Lilenbaum [14], entre as reações positivas, 27,23% eram para este sorovar no Rio de Janeiro. A inexistência de animais reagentes pode ser explicada pelo fato de que apenas um animal era criado consorciado com suínos, que estão relacionados com o sorovar Bratislava [40]. Em relação ao sorovar Australis, que é do mesmo sorogrupo do Bratislava, foi encontrado apenas um animal reagente, no município de Bananeiras. O sorovar Australis foi observado por Jardim et al. [13] e Moraes et al. [40]. Linhares et al. [16], ao analisarem a prevalência dos sorovares de *Leptospira interrogans* em 182 soros de equinos da microrregião de Goiânia, não encontraram nenhuma amostra reagente ao sorovar Australis pelo método de SAM.

Embora o sorovar Icterohaemorrhagiae tenha sido encontrado em muitos estudos entre os mais prevalentes no país, como nos trabalhos de Lilenbaum [14], Shimabukuro et al. [37], Langoni et al. [15], Linhares et al. [16], Gomes et al. [17], Hashimoto et al. [18], Jorge et al. [43] e Coiro et al. [35], nesta investigação isso não ocorreu, sendo encontrado em apenas uma propriedade. Segundo Langoni et al. [15], positividade para este sorovar sugere exposição a roedores, e de acordo com Chiareli et al. [20], os roedores são os hospedeiros naturais deste sorovar. Os cães são hospedeiros preferenciais deste sorovar e também do Canicola [25]. Nas propriedades dos animais reagentes aos sorovares Icterohaemorrhagiae e Canicola havia a presença de cães e roedores. Segundo Chiareli et al. [20], tais sorovarietades são mais comuns em equídeos que vivem próximos às áreas urbanas, devido à maior possibilidade de contato com seus respectivos hospedeiros naturais. Provavelmente, os animais dessa pesquisa tiveram pouco contato com esses sorovares devido ao fato de a maioria ser criada em áreas rurais. O mesmo pode ter acontecido com relação ao sorovar Copenhageni, que é membro do mesmo sorogrupo do Icterohaemorrhagiae. No trabalho de Hamond et al. [45], o sorovar Copenhageni foi o mais frequente, e Houwers et al. [34] encontraram predominância deste sorovar não apenas em equinos, mas também em cães, indicando exposição comum. Hamond et al. [42] encontraram animais positivos apenas para este sorovar. Apesar da baixa prevalência do sorovar Icterohaemorrhagiae neste trabalho, atenção especial deve ser dada a animais reagentes, pois ele é um dos sorovares mais comumente relacionado a casos mais graves de leptospirose em humanos [25].

Jardim et al. [13] observaram predominância do sorovar Grippotyphosa, enquanto no trabalho de Hashimoto et al. [18] e Araújo [39] ele obteve a segunda maior prevalência. Nesse estudo, este sorovar também foi o segundo mais observado. A exposição ao sorovar Grippotyphosa pode resultar do contato direto ou indireto com roedores ou outros animais silvestres, incluindo guaxinins [53], o que pode estar relacionado à alta contaminação ambiental [39]. Dos nove animais reagentes a este sorovar, oito eram do município de Bananeiras e um de Borborema, os quais são contíguos. Esses valores correspondem a 50% do total de animais reagentes em cada um desses dois municípios, o que pode indicar uma área enzoótica específica para este sorovar. Apenas um dos animais reagentes a este sorovar não era procedente de propriedade com presença de roedores ou animais silvestres, mas era procedente de rebanho aberto. Em duas das propriedades com animais positivos a este sorovar, foi citada a presença de guaxinins. Jorge et al. [43] também sugerem que os guaxinins têm um papel importante na manutenção de *Leptospira* spp.

O sorovar Pyrogenes apresentou a mesma prevalência do Grippytyphosa. Gomes et al. [17] e Moraes et al. [40] também encontraram o sorovar Pyrogenes como o segundo mais prevalente. Linhares et al. [16] não observaram nenhum animal reagente para esse sorovar. Favero et al. [47] encontraram 12,8% de equinos positivos para *Leptospira* spp. em um município da Paraíba, sendo os sorovares Pyrogenes e Patoc os mais frequentes. Todos os animais reagentes ao sorovar Pyrogenes eram criados de forma consorciada com bovinos e nas propriedades havia a presença de cães, sendo necessária a investigação dessas espécies na transmissão desse sorovar para os equídeos. Segundo Araújo [39], este sorovar tem como hospedeiros naturais os animais silvestres. Apenas dois animais reagentes a este sorovar não tinham contato com animais silvestres. No município de Alagoa Grande, em todas as propriedades positivas havia a presença do sorovar Pyrogenes, podendo indicar uma área em que este sorovar está amplamente disseminado. Também foi considerado o provável sorovar infectante em outras duas propriedades localizadas nos municípios de Borborema e Serraria, que são vizinhos.

O maior título (800) só foi encontrado para os sorovares Hardjo e Pyrogenes. Os altos títulos encontrados, principalmente aqueles iguais ou maiores a 400, evidenciam que houve contato recente com as leptospiros; enquanto os baixos títulos, principalmente de 100, sugerem infecção crônica ou passada. Chiareli [2] encontrou 5,9% de reações positivas em Minas Gerais considerando ponto de corte de 1:200, mas se fossem considerados reagentes soros com reações iguais ou maiores que 1:100, como é visto nos trabalhos de Lilenbaum [14], Langoni et al. [15], Oliveira e Pires Neto [1], Linhares et al. [16], e também neste trabalho, o número de animais positivos aumentaria.

Como a vacinação contra a leptospirose não foi realizada nos equídeos pesquisados, supõe-se que os níveis de anticorpos foram adquiridos a partir de infecção natural. Sete animais reagiram para mais de um sorovar; é possível que nesses casos exista a exposição a mais de um sorovar, mas também é possível que algumas reações sorológicas cruzadas entre os sorovares tenham ocorrido [7], principalmente aquelas com baixos títulos. Em apenas uma das amostras com reação para mais de um sorovar, estes eram do mesmo sorogrupo (Copenhageni e Icterohaemorrhagiae), sugerindo ocorrência de reação cruzada. Nas demais amostras realmente pode ter ocorrido exposição a mais de um sorovar. Yan et al. [54], trabalhando com infecção experimental, observaram que os títulos para os sorovares que deram reações cruzadas diminuíram antes dos títulos para o sorovar que foi inoculado nos animais.

O aumento da soropositividade com a idade tem sido relatado por vários autores [10,15,26,31,32,51], enquanto Shimabukuro et al. [37] e Chiareli [2] não encontraram associação estatística significativa em relação à essa variável. No entanto neste trabalho maior soropositividade foi observada em animais mais jovens. Rocha [33] sugeriu um possível desenvolvimento de imunidade pelo contato precoce e re-exposição ao agente que pode, finalmente, resultar em alguma tolerância e títulos residuais em cavalos mais velhos. Maior proporção de baixos títulos (1:100) foi observada em animais mais velhos, que também poderiam ter apresentado reações positivas em diluições mais baixas, mas que não foram detectadas pois a menor diluição utilizada foi de 1:100. Animais mais velhos também apresentam uma depressão do sistema imune, que pode resultar em baixos títulos. Além disso, animais não vacinados, mesmo aqueles com títulos tão baixos como 20 ou 40, foram considerados subclínicamente infectados [34]. Isso também pode ser explicado pelo fato de que uma maior proporção dos animais jovens amostrados era criada em propriedades com mais de 30 equídeos, se comparados aos animais mais velhos. Propriedades com mais de 30 equídeos apresentaram maior prevalência de animais positivos. Em rebanhos maiores não há diferenças individuais quanto à susceptibilidade à infecção, mas algumas características desses rebanhos podem facilitar a transmissão de certos agentes como *Leptospira* spp., tais como: maior frequência de reposição de animais, e maior número de problemas relacionados ao controle sanitário. Portanto, em propriedades com maior número de animais, os cuidados sanitários devem ser reforçados. Outra justificativa seria que a partir de aproximadamente 2,5 anos os animais começam a serem domados e treinados para atividades esportivas, tendo mais contato com o ser humano, e conseqüentemente passam a ser mais observados e a receberem mais cuidados sanitários.

Hashimoto et al. [18] indicam a necessidade de determinar a importância dos cavalos na transmissão da leptospirose ao homem. Novos estudos na microrregião do Brejo Paraibano, utilizando cultura ou PCR, são necessários para diferenciar os animais que apenas tenham sido expostos ao agente daqueles que estão eliminando a bactéria e podem ter um papel na transmissão do agente.

O estudo de intensidade Kernel demonstrou uma maior intensidade em uma área no município de Bananeiras, média em áreas nos municípios de Alagoa Grande e Serraria, e menor em uma no município de Areia, sendo essas áreas, nessa ordem, prioritárias para uma possível intervenção para o controle da infecção.

## 5. Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que a variedade de sorovares identificada pode implicar em um provável reflexo dos sorovares mantidos por outros animais domésticos ou selvagens que vivem na mesma

região, que também podem servir de fonte de infecção para o ser humano. Em propriedades com maior número de equídeos, o manejo deve ser mais rigoroso para evitar a introdução e disseminação deste patógeno. Atenção especial deve ser dada a animais mais velhos e com possível infecção crônica, pois podem não apresentar títulos positivos em testes sorológicos mas estarem eliminando o agente através da urina. Os cuidados sanitários devem ser adotados para todas as fases da criação.

## Referências

- [1] Oliveira SJ, Pires Neto JAS. Aspectos etiológicos e de diagnóstico nas leptospiroses. Rev CFMV 2004; 10(33):36-46.
- [2] Chiareli D. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em equídeos em Minas Gerais, 2003/04. 40 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária; 2007.
- [3] Thrusfield MV. Veterinary epidemiology. 3ª.ed. Ed. Blackwell Science; 2005.
- [4] Jones TC, Hunt RD, King NW. Patologia veterinária. 6. ed. São Paulo: Editora Manole; 2000.
- [5] OIE. Leptospirosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2012, vol. 1. Office International des epizooties; 2008. 251-64. Disponível em: <[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.01.09\\_LEPTO.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.09_LEPTO.pdf)>. Acesso em: 19 jul. 2012.
- [6] Hodgins EC, Miller DA, Lozano F. *Leptospira* abortion in horses. J Vet Diagn Invest 1989; 1:283-7.
- [7] Barwick RS, Mohammed HO, Atwill ER, McDonough PL, White ME. The prevalence of equine leptospirosis in New York State. J Equine Sci 1998; 9:119-24.
- [8] Myers DM. Serological studies and isolations of serotype *hardjo* and *Leptospira biflexa* strains from horses of Argentina. J Clin Microbiol 1976; 3:548-55.
- [9] Rocha T, Ellis WA, Montgomery J, Gilmore C, Regalla J, Brem S. Microbiological and serological study of leptospirosis in horses at slaughter: first isolations. Res Vet Sci 2004; 76:199-202.
- [10] Baverud V, Gunnarsson A, Engvall EO, Franzén P, Egenvall A. *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. Acta Veterinaria Scandinavica 2009; 51:15.
- [11] Jung BY, Lee KW, Ha TY. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in Clinically Healthy Racing Horses in Korea. J Vet Med Sci 2010; 72:197-201.
- [12] Odontsetseg N, Boldbaatar D, Mweene AS, Kida H. Serological prevalence of *Leptospira interrogans* serovar Bratislava in horses in Mongolia. Vet Rec 2005; 157:518-9.
- [13] Jardim EC, Silva RL, Almeida MMR, Fichtner SS, Cândida MF. Aglutininas Antileptospira em Equinos no Estado de Goiás. Anais da E. A. V. – UFGO 1978; 8:142-9.
- [14] Lilenbaum W. Leptospirosis on animal reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brazil (1993- 1996). Braz J Vet Res Anim Sci 1998; 35:61-3.
- [15] Langoni H, Silva AV, Pezerico SB, Lima VY. Anti-leptospire agglutinins in equine sera, from São Paulo, Goiás, and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. J Venom Anim Toxins incl Trop Dis 2004; 10:207-18.
- [16] Linhares GFC, Girio RJS, Linhares DCL, Mondeiro LC, Oliveira APA. Sorovares de *Leptospira interrogans* e respectivas prevalências em cavalos da Microrregião de Goiânia, GO. Cienc Anim Bras 2005; 6:255-9.
- [17] Gomes AHB, Oliveira FCS, Cavalcanti LA, Conceição IR, Santos GR, Ramalho EJ, et al. Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em soro de equinos no estado da Bahia. Rev Bras Saúde Prod An 2007; 8:144-51.
- [18] Hashimoto VY, Goncalves DD, Silva FG, Oliveira RC, Alves LA, Reichmann P, et al. Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brazil. Rev Inst Med trop S Paulo 2007; 49:327-30.
- [19] Aguiar DM, Cavalcante GT, Lara MCCSH, Villalobos EMC, Cunha EMS, Okuda LH, et al. Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do Município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. Braz J vet Res anim Sci 2008; 45:269-76.
- [20] Chiareli D, Moreira EC, Gutiérrez HOD, Rodrigues RO, Marcelino AP, Meneses JNC, et al. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em equídeos, em Minas Gerais, 2003 a 2004. Arq Bras Med Vet Zootec 2008; 60:1576-9.
- [21] Maciel RM, Lopes STA, Martins DB, Franciscato C, Merini LP, Costa MM, et al. Incidência de aglutininas anti-*Leptospira* em soro de equinos utilizados na tração de carroças no município de Santa Maria-RS. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 35. Gramado-RS. 2008.
- [22] Bezerra DC, Chaves NP, Guerra PC, Pereira HM, Santos H.P. Pesquisa de aglutininas antileptospira em soros sanguíneos de asininos (*Equus asinus*) e de condutores de veículos de tração animal na cidade de São Luís, MA, Brasil. Ci Anim Bras 2010; 11:931-7.

- [23] Braga J, Hamond C, Martins G, Abreu RN, Lilenbaum W. Ophthalmic alterations in horses with leptospirosis by serovar Icterohaemorrhagiae in Rio de Janeiro, Brazil. *Pesq Vet Bras* 2011; 31:147-50.
- [24] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=pb>. Acesso em 4 mai. 2012.
- [25] Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. Manual de Leptospirose. 2ª ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde; 1995. 98p.
- [26] Lees VW, Gale SP. Titers to *Leptospira* species in horses in Alberta. *Can Vet J* 1994. 35:636-40.
- [27] Hosmer DW, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. New York: John Wiley and Sons; 1989.
- [28] AESA - Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba. Chuvas Acumuladas no ano 2011. Disponível em: <http://www.aesa.pb.gov.br>. Acesso em 03 set. 2012.
- [29] Brasil. Ministério de Ciência e Tecnologia. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. TerraView ver. 3.1.3, 2006. Disponível em: <http://www.dpi.inpe.br/terraview/index.php>. Acesso em: 01/06/2012.
- [30] Bailey TC, Gatrell AC. Interactive spatial data analysis. 1ª ed. Essex: Longman; 1995.
- [31] Carpio MM, Iversen JO. A serological survey of *Leptospira interrogans* serotype pomona in Saskatchewan horses. *Can Vet J* 1979; 20:127-30.
- [32] Park YG, Gordon JC, Bech-Nielsen S, Slemmons RD. Factors for seropositivity to leptospirosis in horses. *Prev Vet Med* 1992; 13:121-7.
- [33] Rocha MTRB. Equine Leptospirosis in Portugal; Serological, Immunological and Microbiological studies. 2004. 234 f. Tese (doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real; 2004.
- [34] Houwers DJ, Goris MGA, Abdoel T, Kas JA, Knobbe SS, van Dongen AM, et al. Agglutinating antibodies against pathogenic *Leptospira* in healthy dogs and horses indicate common exposure and regular occurrence of subclinical infections. *Veterinary Microbiology* 2011; 148:449-51.
- [35] Coiro CJ, Langoni H, Silva RC. Epidemiological Aspects in the *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* Infection in Horses from Botucatu, São Paulo, Brazil. *J equine vet Sci* 2012; 32:620-3.
- [36] Finger MAP. Estudo sorológico e molecular de *Leptospira* spp. em cavalos carroceiros de Curitiba e Pinhais, PR. Dissertação. Universidade Federal do Paraná; 2012.
- [37] Shimabukuro FH, Moraes-Silva E, Mendonça AO, Cerqueira E JL, Araújo WN, Sarkis DT, et al. Aspectos soroepidemiológicos da leptospirose em equídeos, dos municípios de Jacobina e Jequié, Bahia. *Ciênc Vet Tróp* 2001; 4:274-80.
- [38] Rassier G, Recuero RC, Recuero ALC, Brod CS, Fernandes CPH. Diagnóstico sorológico de leptospirose na espécie equina na zona sul do Rio Grande do Sul, Brasil. In: XV Congresso de Iniciação Científica. UFPEL. Anais...; 2006.
- [39] Araújo BM. Soroepidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. em bovinos, equídeos, caninos e trabalhadores rurais em assentamento no município de Aragominas, Tocantins, Brasil. 112 f. : Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária; 2010.
- [40] Moraes CCG, Kuroda RBS, Pinho APVB, Ywasaki F, Meneses AMC, Martins AV, et al. Pesquisa de anticorpos para sorovares de *Leptospira interrogans* patogênicas em equídeos criados na ilha de Algodoal, Estado do Pará. *Rev Ci Agra* 2010; 53:188-94.
- [41] Finger MAP, Kamoi MYT, Teider Junior PI, Kikuti M, Ullmann LS, Langoni H, et al. Serological diagnosis of leptospirosis and laboratory profile in cart horses from Curitiba, Paraná. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 38. Anais...: Florianópolis. 2011.
- [42] Hamond C, Martins G, Reis J, Kraus E, Pinna A, Lilenbaum W. Pulmonary hemorrhage in horses seropositive to leptospirosis. *Pesq Vet Bras* 2011; 31:413-5.
- [43] Jorge RSP, Ferreira F, Ferreira Neto JS, Vasconcellos SA, Lima ES, Morais ZM, et al. Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira* spp in the northern Pantanal, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106:441-4.
- [44] Pinna AE, Martins G, Hamond C, Lilenbaum W. Molecular diagnostics of leptospirosis in horses is becoming increasingly important. *Veterinary Microbiology* 2011; 153:413.
- [45] Hamond C, Martins G, Lawson-Ferreira R, Medeiros MA, Lilenbaum W. The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area. *Epidemiol infect* 2012a. Disponível em CJO 2012 doi:10.1017/S0950268812000416. (Em publicação).
- [46] Pinna A, Martins G, Lilenbaum W. Leptospirosis and embryo recovery rate in mares. *Vet Rec* 2012; 170:60.
- [47] Favero ACM, Pinheiro SR, Vasconcellos SA, Morais ZM, Ferreira F, Ferreira Neto JS. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Cienc Rural* 2002; 32:613-9.

- [48] Siqueira CC. Leptospirose equina: estudo soropidemiológico nas regiões metropolitana de Salvador e recôncavo baiano. 75 p.: Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador. 2012.
- [49] Hamond C, Martins G, Lilenbaum W. Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. *Trop Anim Health Prod* 2012b. (Em publicação).
- [50] Donahue JM, Smith BJ, Poonacha KB, Donahue JK, Rigsby CL. Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1991-1993 foaling seasons. *J Vet Diagn Invest* 1995; 7:87-91.
- [51] Kitson-Piggot AW, Prescott JF. Leptospirosis in horses in Ontario. *Can J Vet Res* 1987; 51:448-51.
- [52] Van den Ingh TSGAM, Hartman EG, Bercovich Z. Clinical *Leptospira interrogans* serogroup *Australis* serovar *lora* infection in a stud farm in the Netherlands. *Veterinary Quarterly* 1989; 11:175-82.
- [53] Shapiro JL, Prescott JF, Henry G. Equine abortions in eastern Ontario due to leptospirosis. *Can Vet J* 1999; 40:350-351.
- [54] Yan W, Faisal SM, Divers T, McDonough SP, Akey B, Chang YF. Experimental *Leptospira interrogans* Serovar Kinnewicki Infection of Horses. *J Vet Intern Med* 2010; 24:912-7.

### Legendas das figuras

Fig. 1. Distribuição e prevalência da infecção por *Leptospira* spp. nas propriedades amostradas.

Fig. 2. Distribuição dos sorovares de *Leptospira* spp. por propriedades com equídeos positivos no Brejo Paraibano.

Fig. 3. Precipitação pluviométrica nos municípios e prevalência da infecção por *Leptospira* spp. nas propriedades.

Fig. 4. Kernel da prevalência da infecção por *Leptospira* spp. no Brejo Paraibano.

**Tabela 1**

Distribuição dos sorovares de *Leptospira* spp. em equídeos procedentes do Brejo Paraibano

Sorovar	Titulação												Total		
	100			200			400			800			E	M	A
	E	M	A	E	M	A	E	M	A	E	M	A			
Australis	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-
Autumnalis	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
Batavie	1	-	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	3	-	1
Canicola	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Copenhageni	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Grippotyphosa	5	1	-	1	-	-	1	-	1	-	-	-	7	1	1
Hardjo	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-
Icterohaemorrhagiae	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-
Panama	11	2	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	14	2	-
Pyrogenes	4	1	-	-	1	-	2	-	-	1	-	-	7	2	-
Shermani	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
Tarassovi	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Total	28	4	1	4	1	-	8	-	1	1	1	-	41	6	2

Convenções: E – Equino; M – Muar; A - Asinino

**Tabela 2**

Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes nas propriedades (reagentes em relação ao total de propriedades) amostradas na microrregião do Brejo Paraibano no período de julho a dezembro de 2011

Sorovar	Proporção de propriedades positivas	Prevalência (%)
Australis	1/26	3,8
Autumnalis	2/26	7,7
Batavie	3/26	11,5
Canicola	1/26	3,8
Copenhageni	1/26	3,8
Grippotyphosa	5/26	19,2
Hardjo	2/26	7,7
Icterohaemorrhagiae	1/26	3,8
Panama	10/26	38,5
Pyrogenes	7/26	26,9
Shermani	1/26	3,8
Tarassovi	1/26	3,8

**Tabela 3**Análise univariada dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em equídeos no Brejo Paraibano

Variável	N	SAM	Análise univariada		
			Valor de p	OR	I.C. 95%
<b>Área</b>					
Rural	221	38 (17,2%)	0,132	2,28	0,66 – 12,20
Peri-urbana	36	3 (8,3%)			
<b>Espécie</b>					
Equino	204	33 (16,2%)	0,568	-	0,25 – 2,06
Muar	46	6 (13,0%)		0,78	
Asinino	7	2 (28,6%)		2,67	
<b>Sexo</b>					
Macho	141	23 (16,3%)	0,500	1,06	0,51 – 2,21
Fêmea	116	18 (15,5%)			
<b>Idade (anos)</b>					
<2,5	43	12 (27,9%)	0,063	-	0,17 – 1,00
Entre 2,5 e 11	163	22 (13,5%)		0,40	
Acima de 11	51	7 (13,7%)		1,02	
<b>Sistema de criação</b>					
A campo	96	18 (18,8%)	0,548	-	0,35 – 1,54
Semi-estabulado	159	23 (14,5%)		0,73	
Estabulado	2	0 (0,0%)		0,00	
<b>Quantidade de equídeos na propriedade</b>					
<10	65	10 (15,4%)	0,058	-	0,36 – 2,17
Entre 10 e 30	163	22 (13,5%)		0,86	
>30	29	9 (31,0%)		2,88	
<b>Criação consorciada</b>					
Sim	217	39 (18,0%)	0,025*	4,16	0,99 – 36,95
Não	40	2 (5,0%)			
<b>Presença de Animais Silvestres</b>					
Sim	195	34 (17,4%)	0,171	1,65	0,67 – 4,68
Não	62	7 (11,3%)			
<b>Suplementação alimentar</b>					
Sim	189	28 (14,8%)	0,257	0,73	0,34 – 1,66
Não	68	13 (19,1%)			
<b>Feno</b>					
Sim	13	1 (7,7%)	0,353	0,42	0,00 – 3,03
Não	244	40 (16,4%)			
<b>Fonte de água</b>					
Parada	94	11 (11,7%)	0,335	-	0,63 – 4,04
Corrente	87	15 (17,2%)		1,57	
Parada + corrente	76	15 (19,7%)		1,18	
<b>Água de Superfície</b>					
Sim	134	26 (19,4%)	0,079	1,73	0,82 – 3,72
Não	123	15 (12,2%)			
<b>Pastos Alagados</b>					
Sim	243	40 (16,5%)	0,313	2,56	0,36 – 111,54
Não	14	1 (7,1%)			

\* Associação significativa ao nível 5%

**Tabela 4**

Análise univariada dos fatores de risco (biosseguridade) associados à infecção por *Leptospira* spp. em equídeos no Brejo Paraibano

Variável	N	SAM	Análise univariada		
			Valor de p	OR	I.C. 95%
<b>Limpeza<sup>a</sup></b>					
Sim	229	38 (16,6%)	0,622	0,99	0,20 – 9,70
Não	12	2 (16,7%)			
<b>Uso de desinfetantes<sup>a</sup></b>					
Sim	21	2 (9,5%)	0,285	0,50	0,05 – 2,24
Não	208	36 (17,3%)			
<b>Aluguel de pasto</b>					
Sim	22	2 (9,1%)	0,283	0,50	0,11 – 2,23
Não	235	39 (16,6%)			
<b>Tipo do rebanho</b>					
Aberto	229	37 (16,2%)	0,527	1,15	0,36 – 4,84
Fechado	28	4 (14,3%)			
<b>Procedência dos animais<sup>a</sup></b>					
Comerciante	199	35 (17,6%)	0,314	-	0,01 – 2,02
Leilão/exposição	17	1 (5,9%)		0,29	
Ambos	13	1 (7,7%)		1,33	
<b>Realiza quarentena</b>					
Sim	97	16 (16,5%)	0,492	1,06	0,50 – 2,22
Não	160	25 (15,6%)			
<b>Presença de roedores</b>					
Sim	224	36 (16,1%)	0,564	1,07	0,37 – 3,79
Não	33	5 (15,2%)			
<b>Roedores tem acesso ao armazém de ração</b>					
Sim	175	29 (16,6%)	0,558	1,04	0,42 – 2,84
Não	50	8 (16,0%)			
<b>Realiza controle de roedores</b>					
Sim	169	28 (16,6%)	0,503	1,07	0,49 – 2,47
Não	77	12 (15,6%)			

<sup>a</sup> Base diferente

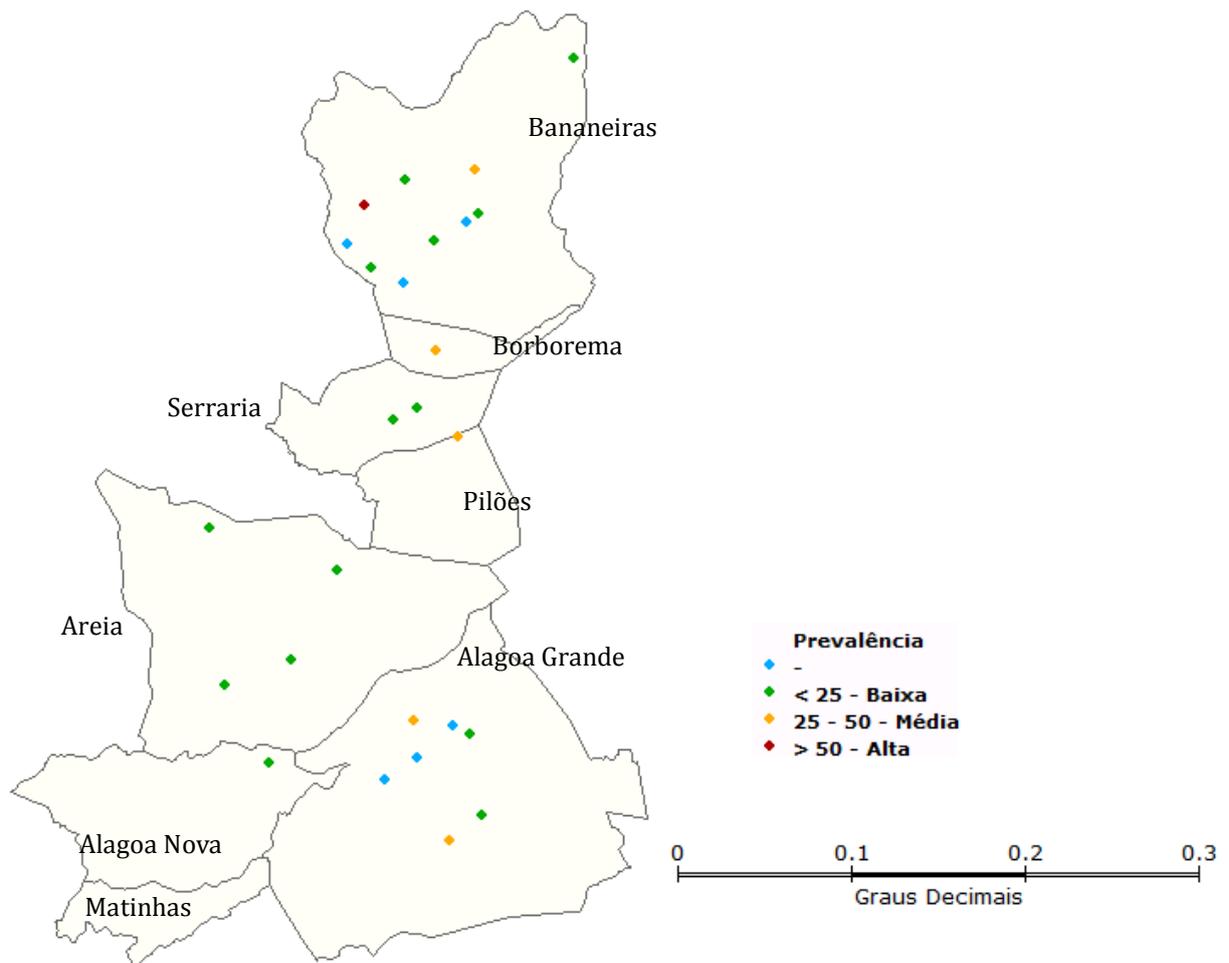


Figura 1

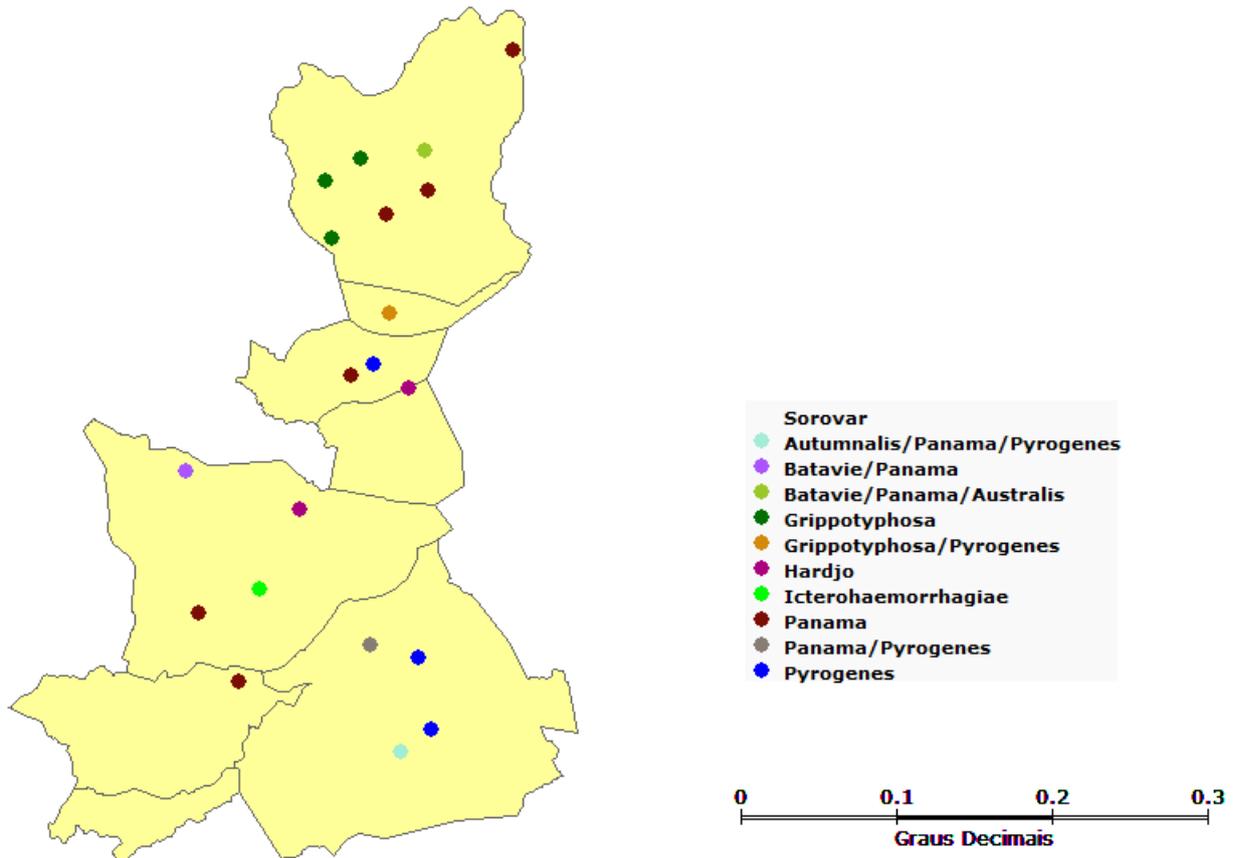


Figura 2

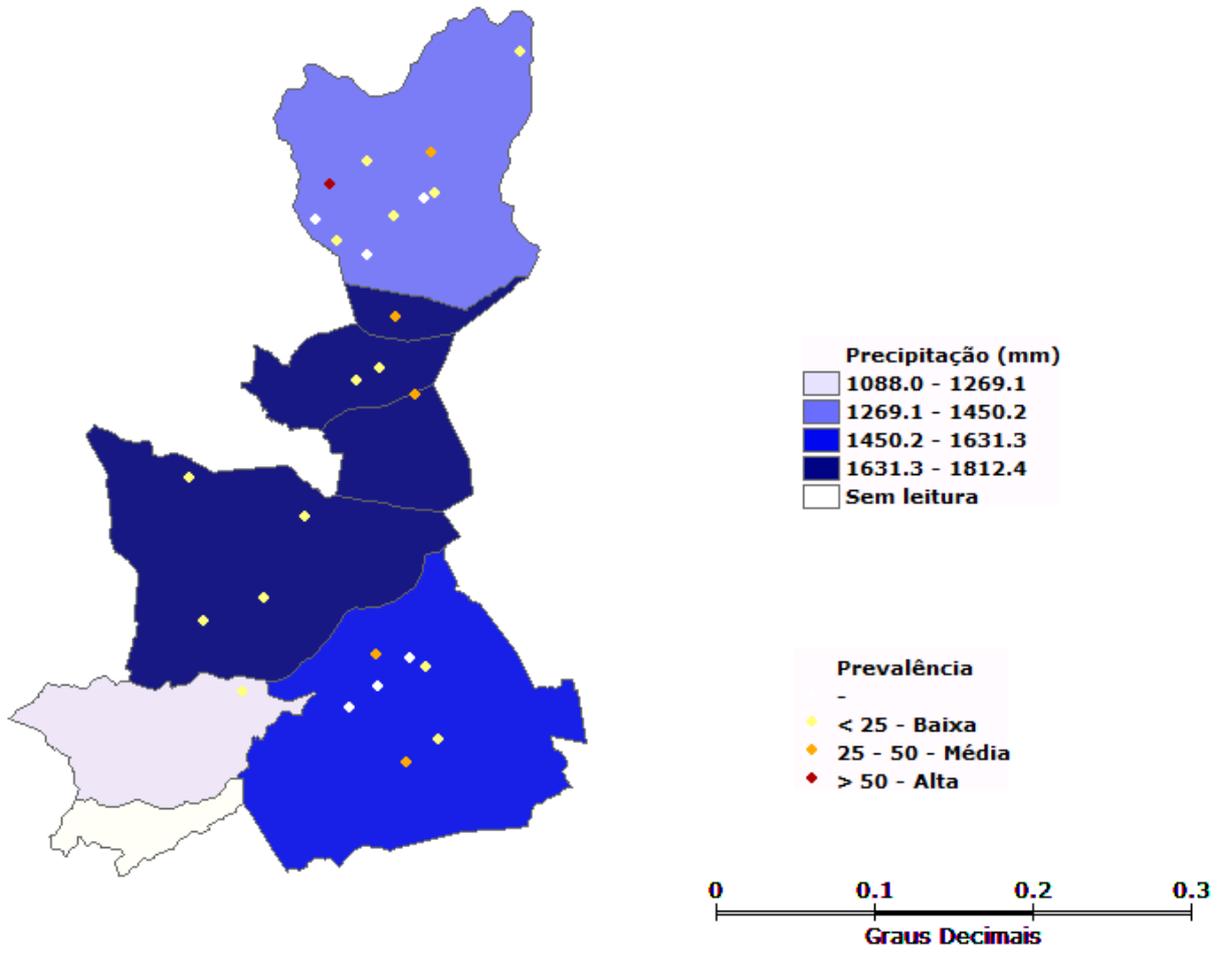


Figura 3

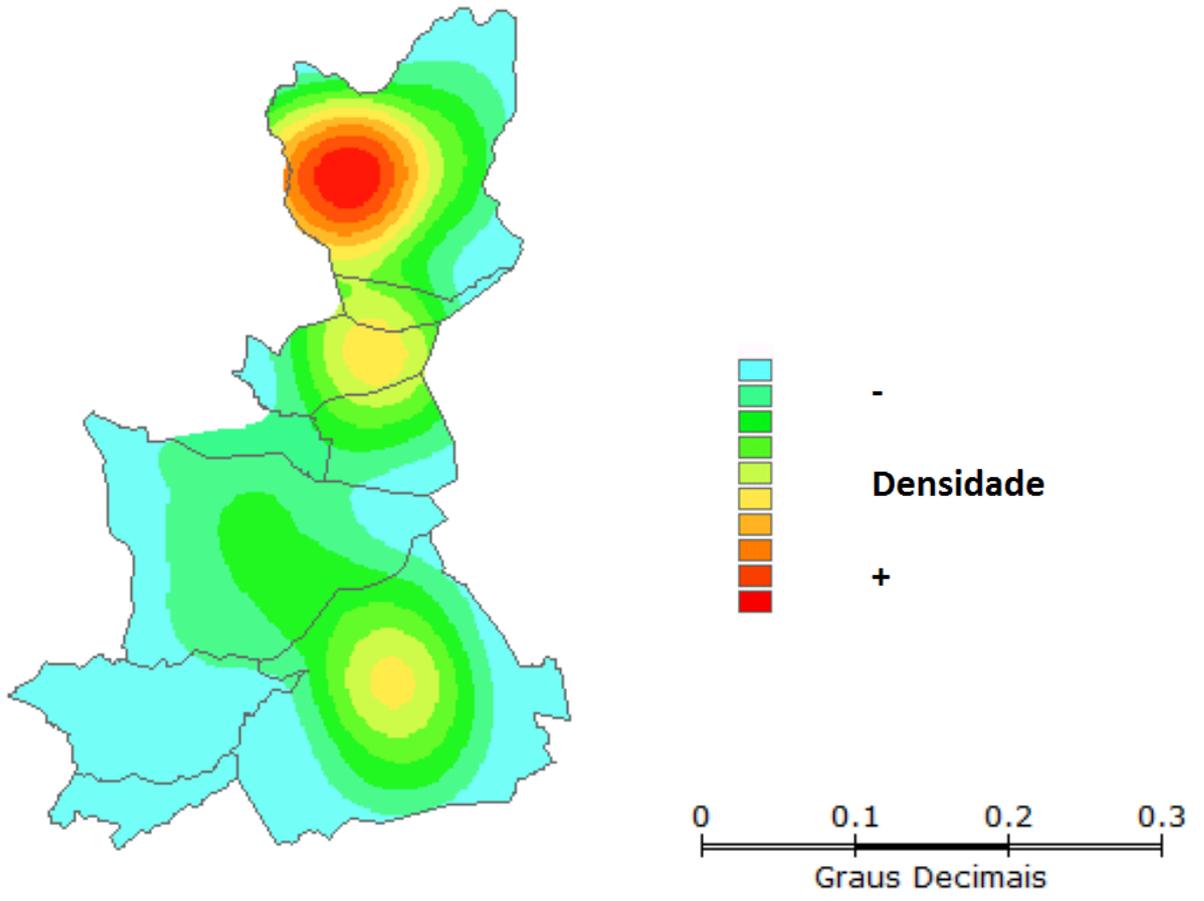


Figura 4

**5.2 ARTIGO 2**

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Brucella* spp. EM EQUÍDEOS NA  
MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO**

**(Artigo a ser enviado para o periódico Memórias do Instituto Oswaldo Cruz)**

***Brucella* spp. em equídeos na Paraíba**  
**Prevalência da infecção por *Brucella* spp. em equídeos na microrregião do Brejo**  
**Paraibano**

Objetivou-se com este estudo determinar a prevalência da infecção por *Brucella* spp. em equídeos no Brejo Paraibano. Foram analisadas 257 amostras em 26 propriedades. Para o diagnóstico utilizou-se o teste do Antígeno Acidificado Tamponado. Das 257 amostras analisadas nenhuma foi reagente. Este é o primeiro estudo a pesquisar anticorpos contra *Brucella* spp. em equídeos nessa microrregião. Apesar de não terem sido diagnosticados animais reagentes e da menor importância epidemiológica dos equídeos se comparados aos bovídeos, inquéritos epidemiológicos são necessários para determinar o *status* sorológico nesta espécie, uma vez que as mesmas podem servir como fonte de infecção para outras espécies e para o homem.

Palavras-chave: brucelose – equino – Paraíba

## INTRODUÇÃO

A brucelose é uma doença crônica que, muito embora seja mais frequente e grave nos bovinos, pode acometer também os equídeos. Nessas espécies é causada quase que exclusivamente pela *Brucella abortus* e, eventualmente, pela *Brucella suis*, que invade o organismo do animal pela via digestória com alimentos, água e fômites contaminados por líquidos e restos de abortos de bovinos e, ocasionalmente, de outros cavalos infectados (Thomassian 2005). A brucelose equina merece preocupação em virtude da debilidade orgânica que provoca nos animais, pelos prejuízos decorrentes da eutanásia dos equinos

infectados, além de constituírem fonte de infecção para outras espécies domésticas, inclusive, para o homem (Ribeiro et al. 2003).

Exames sorológicos para detecção de anticorpos anti-*Brucella* spp. em equídeos foram realizados em vários países. No México, foi relatada uma soroprevalência de 0,2% (Acosta-González et al. 2006). Na Turquia, Göz et al. (2007) encontraram 9,5% de equinos positivos na cidade de Hakkari, e Tel et al. (2011), em duas províncias do sudeste deste país, encontraram 0,5% dos equinos e 0,3% dos asininos com títulos positivos. Tzaneva et al. (2009) não encontraram equídeos positivos na Bulgária. No Egito, o teste de aglutinação em tubos revelou soro-prevalência de 20,6%, 5,9% e 71,4% em asininos, equinos e muares, respectivamente (Refai 2002). Tahamtan et al. (2010), no Iran, utilizando o AAT e o teste de aglutinação em tubos pelo 2-mercaptoetanol (2-ME), encontraram prevalência de 2,5% nos dois testes. No Brasil os dados existentes em equídeos revelam prevalências variando de zero a 88,0% (Hipólito et al. 1943, Pacheco 1945, Langenegger & Szechy 1961, Caldas et al. 1963, Oliveira et al. 1973, Godoy & Barg 1976, Jardim et al. 1978, Viana et al. 1981, Feitosa et al. 1991, Langoni & Silva 1997, Aguiar et al. 2008, Carrazza et al. 2008, Stark et al. 2008, Araujo et al. 2009, Antunes et al. 2010, Arruda et al. 2010, Carrazza et al. 2010, Arruda et al. 2012).

Em função de o Brasil apresentar o maior rebanho de equinos na América Latina, da importância da brucelose para a saúde pública e de não haver relatos desta infecção na microrregião do Brejo Paraibano, objetivou-se com esse estudo determinar a prevalência da infecção por *Brucella* spp. em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A microrregião do Brejo Paraibano está inserida na mesorregião do Agreste, e é composta por oito municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria (IBGE 2012). Foi realizado um estudo transversal para determinar a prevalência, e o plano amostral foi dividido em dois estágios. No primeiro estágio, foram selecionadas todas as propriedades com criação de dez ou mais equídeos (unidades primárias de amostragem), visto que, são essas propriedades que realmente fazem parte da cadeia produtiva da equideocultura, totalizando 26 propriedades; no segundo, foi sorteado, de forma aleatória, um número pré-estabelecido de equídeos (unidades secundárias de amostragem). A amostra de cada propriedade foi calculada com o auxílio do programa Win Episcopo 2.0. Para compor a amostra do estudo da prevalência foi considerada uma prevalência de 50%, visto que não há dados sobre a ocorrência desta infecção nesta microrregião. Em cada propriedade também foi considerada uma confiança mínima de 95% e erro estatístico de 10%. Desta forma, foram coletadas 257 amostras sanguíneas de equídeos (equinos, asininos e muares) clinicamente saudáveis, de diferentes sexos e finalidade, no período compreendido entre julho e dezembro de 2011.

A escolha das unidades primárias de amostragem foi baseada no cadastro de propriedades rurais com equídeos, da Secretaria de Estado do Desenvolvimento da Agropecuária e da Pesca (SEDAP). A propriedade selecionada que, por motivos vários, não pôde ser visitada, foi substituída por outra, nas proximidades, com as mesmas características de produção. A propriedade selecionada que, no momento da visita, possuía menos que os dez equídeos previstos anteriormente também foi amostrada, e nesse caso foram coletadas amostras de todos os animais.

Apenas um dos oito municípios da microrregião não foi amostrado, pois, segundo o cadastro, não havia propriedades que atendessem ao critério de seleção de pelo menos dez equídeos. Os municípios pesquisados foram: Areia (n=42; 28 equinos, 01 asinino e 13 muares), Serraria (n=13; 09 equinos e 04 muares), Alagoa Grande (n=67; 54 equinos, 02 asininos e 11 muares), Bananeiras (n=108; 93 equinos, 03 asininos e 12 muares), Pilões (n=3; 03 muares), Borborema (n=7; 04 equinos, 01 asinino e 02 muares) e Alagoa Nova (n=17; 16 equinos e 01 muar).

Os equídeos eram criados a campo, semi-estabulados ou estabulados. Em relação à raça, os animais testados eram sem raça definida (SRD) (152), Quarto-de-milha (15), mestiços de Quarto-de-milha (74) e Manga-larga (16). Nesta microrregião, os equídeos são utilizados com as finalidades de esporte (vaquejada), reprodução, trabalho ou lazer. As idades dos animais foram agrupadas em três estratos: abaixo de 2,5 anos de idade (animais jovens), entre 2,5 e 11 anos (animais em idade reprodutiva) e acima de 11 anos (animais idosos). Quanto ao sexo 116 eram fêmeas e 141 machos.

As amostras de sangue foram obtidas por venopunção da jugular, com sistema de colheita a vácuo, em tubos siliconizados com capacidade para 10 mL. As amostras sanguíneas colhidas foram mantidas em temperatura ambiente até a retração do coágulo sanguíneo, em seguida transportadas ao laboratório sob refrigeração, onde foram centrifugadas, durante 10 minutos, a 900g. O soro obtido foi transferido para tubos de polipropileno sendo armazenados em temperatura de freezer a -20°C, até o momento da realização dos testes sorológicos.

Os soros foram examinados pelo teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), de acordo com as normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil 2006).

Em cada propriedade amostrada foi aplicado um questionário epidemiológico com perguntas objetivas, elaborado para obter informações sobre o tipo de exploração e as práticas de manejo empregadas.

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco com a licença nº 036/2012.

## RESULTADOS

Das 257 amostras analisadas, nenhuma foi reagente ao teste do Antígeno Acidificado Tamponado.

## DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo a pesquisar anticorpos anti-*Brucella abortus* em equídeos nessa microrregião do estado da Paraíba. Em várias partes do mundo, diversos trabalhos mostraram prevalências entre 0,0% e 71,4% (Omer et al. 2000, Refai 2002, Acosta-González et al. 2006, Göz et al. 2007, Aricapa et al. 2008, Abo-Shehada 2009, Wadood et al. 2009, Tzaneva et al. 2009, Tahamtan et al. 2010, Tel et al. 2011, Ehizibolo et al. 2011). No Brasil, estudos determinaram prevalências que variaram de 0,0% a 88,0% (Hipólito et al. 1943, Pacheco 1945, Langenegger & Szechy 1961, Caldas et al. 1963, Oliveira et al. 1973, Godoy & Barg 1976, Jardim et al. 1978, Viana et al. 1981, Feitosa et al. 1991, Langoni & Silva 1997, Aguiar et al. 2008, Carrazza et al. 2008, Stark et al. 2008, Araujo et al. 2009, Antunes et al. 2010, Carrazza et al. 2010). No estado da Paraíba, Arruda et al. (2010) e Arruda et al. (2012) encontraram 0,6% de equinos reagentes.

É difícil comparar precisamente os resultados desta pesquisa com estudos publicados anteriormente, porque diferentes planos amostrais e métodos de diagnóstico foram utilizados. A restrita literatura sobre a doença na espécie dificulta o esclarecimento da prevalência, dos mecanismos de transmissão, bem como da relevância da coabitação de espécies na ocorrência da doença, que permitiriam esclarecer a epidemiologia e o real impacto da enfermidade na espécie (Ribeiro et al. 2003). Outros fatores também podem influenciar nos resultados, tais como: condições ambientais, tipo de criação (extensiva, semi-intensiva e intensiva), fonte de água, presença de sinais clínicos e criação consorciada com outros animais, principalmente bovídeos.

Apesar de nenhum animal reagente ter sido encontrado na microrregião do Brejo Paraibano, os equídeos eram mantidos sob algumas condições que podem propiciar a infecção desses animais. Entre os animais amostrados, 84,4% eram criados de forma consorciada com bovinos, e em apenas uma propriedade com suínos. Nos equinos a brucelose é causada quase que exclusivamente pela *Brucella abortus* e, eventualmente, pela *Brucella suis* (Thomassian 2005). O principal reservatório da *Brucella abortus* é o bovino ou o bubalino infectado (Costa 2008). Brazil et al. (2008) e Amaral & Silva (2010) relataram dois casos de brucelose em equinos criados juntos com rebanho bovino brucélico. Em trabalho realizado por Silva et al. (2001), verificou-se que 84,2% dos equinos soropositivos eram criados nos mesmos pastos de bovinos infectados. Ocholi et al. (2004) relataram evidência sorológica de infecção por *B. abortus* em quatro equinos pastando no mesmo piquete que bovinos positivos para brucelose e *B. abortus* biótipo 1 foi isolada em três desses equinos.

Nas propriedades de 58,5% dos equídeos que eram criados consorciados com bovinos não era realizada a vacinação contra brucelose em bovinos. Com efeito, a vacinação sistemática de bezerras entre três e oito meses de idade com vacina atenuada B19 auxilia

no controle da brucelose em bovinos e conseqüentemente protege os equinos, especialmente em propriedades nas quais ocorre a coabitação com bovinos (Ribeiro et al. 2008).

Em 73,1% das propriedades pesquisadas, havia a presença de animais silvestres. A presença dos reservatórios silvestres, a coabitação de espécies animais e a resistência do micro-organismo em condições adversas no ambiente são fatores que favorecem a manutenção do agente no ambiente e em criatórios de animais domésticos, inviabilizando, por vezes, sua erradicação em determinadas regiões ou países (Poester et al. 2002).

Em relação à prática de biossegurança, observou-se que 69,2% das propriedades não realizavam quarentena ao adquirir animais. A adoção de quarentena para animais recém-adquiridos também é um procedimento indicado no controle e na prevenção da brucelose (Ribeiro et al. 2008). A maioria dos animais (99,2%) não era mantida estabulada, o que pode favorecer a transmissão do agente por outras espécies domésticas ou silvestres. Aproximadamente 94,0% dos animais tinham acesso a áreas de pastos alagados, as quais podem contribuir para a sobrevivência do micro-organismo pela maior umidade do ambiente. Quase 90,0% dos animais eram criados em rebanhos abertos, onde a introdução de animais infectados por *Brucella abortus* é mais provável. Em apenas uma propriedade os animais eram procedentes de exposições ou leilões, onde geralmente o controle sanitário é mais rigoroso. Apenas 25,7% dos animais eram criados em propriedades com assistência veterinária. Em menos de 30,0% das propriedades com bovinos era realizado teste para diagnóstico de brucelose nessa espécie.

Apesar de não terem sido diagnosticados animais positivos neste estudo e da menor importância epidemiológica dos equídeos se comparados aos bovídeos na cadeia epidemiológica da brucelose, inquéritos epidemiológicos são necessários para determinar o *status* sorológico em equídeos, uma vez que estas espécies podem servir como fonte de

infecção para outras espécies e para o homem. Outro ponto que deve ser destacado é que muitos destes equídeos eram mantidos sob condições que podem favorecer a transmissão do agente, e caso esses animais sejam criados de forma consorciada com bovídeos, deve-se realizar um controle sanitário adequado, realizando-se a vacinação dos bovídeos e testes diagnósticos com certa frequência para identificar os animais infectados.

## REFERÊNCIAS

- Abo-Shehada MN 2009. Seroprevalence of *Brucella* species in equids in Jordan. *Vet Rec* 165:267-268.
- Acosta-González RI, González-Reyes I, Flores-Gutiérrez GH 2006. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in equines of a tropical region of Mexico. *Can J Vet Res* 70:302–304.
- Aguiar DM, Cavalcante GT, Lara MCCSH, Villalobos EMC, Cunha EMS, Okuda LH, Stéfano E, Nassar AFC, Souza GO, Vasconcellos SA, Labruna MB, Camargo LMA, Gennari SM 2008. Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em eqüídeos do Município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Braz J Vet Res Anim Sci* 45:269-276.
- Amaral RLG, Silva LBG 2010. Diagnóstico de brucelose em equinos em uma propriedade rural no município de Sairé/PE. In *X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX 2010 – UFRPE, Recife. Anais... : Recife.*
- Antunes JMAP, Neves TB, Megid J, Almeida ACS, Barros Filho IR, Deconto I, Biondo AW, Finger MAP 2010. Brucelose em cavalos carroceiros de Curitiba e região metropolitana. In *XI Conferência Anual da ABRAVEQ, São Paulo. Anais... : São Paulo.*

- Araujo RR, Pena LJ, Pena DA, Dias FM, Moraes MP 2009. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella* spp. em equídeos da região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Arq Inst Biol* 76:681-684.
- Aricapa HJ, Jaramillo A, Pérez JE, Londoño L, Castrillón A, Amaya C, Murillo JM, Largo J, Alzate E, Buitrago F, Feris J, Gallego M, Hurtado JM, Orozco J, Hernández JF, Martínez A, Sánchez F 2008. Prevalencia de brucelosis bovina, equina y humana en Caldas – Colombia - Sur América. *Biosalud* 7:75-87.
- Arruda FR, Silva MH, Soares Filho PM, Campos AC, Azevedo EO 2010. Sorologia da brucelose equina no estado da Paraíba, In *V Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal*, 2010, Patos, PB. Anais... Patos: CONERA. (CD-ROM).
- Arruda FR, Silva MH, Soares Filho PM, Campos AC, Azevedo EO 2012. Brucelose equina no Estado da Paraíba. *Med Vet (Recife)* 6:7-10.
- Brasil 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual Técnico / organizadores, Vera Cecilia Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. - Brasília: MAPA/SDA/DSA. 188 p.
- Brazil DS, Campos SBS, Silva TV, Batista BPS, Silva LAF 2008. Ocorrência de brucelose em eqüinos manejados juntamente com bovinos: relato de dois casos. In *35<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Anais... : Gramado.
- Caldas AD, Mello D, Queiroz JC 1963. Brucelose eqüina no Estado de São Paulo. Inquérito sorológico. *Biológico* 29:135-137.
- Carrazza LG, Junqueira YF, Carrazza TG, Oliveira PR, Lima-Ribeiro AMC 2010. Soroepidemiologia da brucelose em equinos de tração em áreas urbanas no município de Uberlândia-MG. *Hor Ci* 4.

- Carrazza LG, Junqueira YF, Oliveira PR, Lima-Ribeiro AMC 2008. Brucelose em Eqüinos de Tração de Uberlândia – MG. In *XII Seminário Interno de Iniciação Científica da Universidade Federal de Uberlândia, Anais... : Uberlândia.*
- Costa GM 2008. *Controle das doenças de bovinos: Brucelose e Tuberculose*, Lavras: UFLA/FAEPE – 1ª Ed. 147p.:il. – Curso de Pós-graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância – Defesa Sanitária Animal.
- Ehizibolo DO, Gusi AM, Ehizibolo PO, Mbuk EU, Ocholi RA 2011. Serologic Prevalence of Brucellosis in Horse Stables in Two Northern States of Nigeria. *J Equine Sci* 22:17-19.
- Feitosa MH, Bittar CR, Gomes SP 1991. Brucelose: levantamento sorológico no estado de São Paulo no período de 1977 a 1987. *Vet Zootec* 3:9-15.
- Godoy AM, Barg L 1976. Aspectos ecológicos da infecção brucélica. 2- Investigação sorológica em cavalos de corrida. *Arq Esc Vet UFMG* 28:121-123.
- Göz Y, Babür C, Aydin A, Kiliç S 2007. Seroprevalence of toxoplasmosis, brucellosis and listeriosis in horses in Hakkari, eastern region of Turkey. *Revue Méd Vét* 158:534-539.
- Hipólito O, SOUZA R, GIÓVINE N 1943. Brucelose e sôro-aglutinação em Minas Gerais. *Arq Esc Sup Vet* 1:31-34.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=pb>. Acesso em 4 mai. 2012.
- Jardim EC, Almeida MMR, Cândida MF, Silva RL, Fichtner SS 1978. Presença de Aglutininas Anti-*Brucella* em Eqüinos no Estado de Goiás. *Pesq Agropec Trop* 8:150-155.
- Langenegger J, Szechy AM 1961. Brucelose dos equídeos domésticos - isolamento de *Brucella abortus* de bursites de cernelha no Brasil. *Arq Inst Biol Animal* 4:49-63.
- Langoni H, Silva AV 1997. Comportamento sorológico de aglutininas anti-*Brucella* em soro de eqüídeos. *Rev Bras Med Vet* 19:85-87.

- Ocholi RA, Bertu WJ, Kwaga JKP, Ajogi I, Bale JO, Okpara J 2004. Carpal bursitis associated with *Brucella abortus* in a horse in Nigeria. *Vet Rec* 155:566-567.
- Oliveira QC, Moreira WS, Lima CS 1973. Brucelose em equinos. *Rev Centro Ciências Rurais* 3:111-120.
- Omer MK, Skjerve E, Holstad G, Woldehiwet Z, Macmillan AP 2000. Prevalence of antibodies to *Brucella* spp. in cattle, sheep, goats, horses and camels in the State of Eritrea; influence of husbandry systems. *Epidemiol Infect* 125:447-453.
- Pacheco G 1945 Brucelose equina no Brasil. *Bol Soc Bras Med Vet* 14:3-5.
- Poester FP, Gonçalves VSP, Lage AP 2002. Brucellosis in Brazil. *Vet Microbiol* 90:55-62.
- Refai M 2002. Incidence and control of brucellosis in the Near East region. *Vet Microbiol* 90:81-110.
- Ribeiro MG, Nardi Júnior G, Megid J, Paes AC, Listoni FJP 2003. Aglutininas anti-*Brucella abortus* no soro e em secreção de bursite cervical em eqüinos. *Arq Bras Med Vet Zootec* 55:99-101.
- Ribeiro MG, Motta RG, Almeida CA 2008. Brucelose eqüina: aspectos da doença no Brasil. *Rev Bras Reprod Anim* 32:83-92.
- Silva LAF, Acypreste CS, Eurides D, Machado GV, Dias Filho FC, Fioravanti MCS, Ramos LS 2001. Soroprevalência de Brucelose em Eqüinos com Bursite cervical ou nugal. *Arq Ciên Vet Zoo UNIPAR* 4:19-23.
- Stark CB, Amaral LA, Hentges A, Jorge S, Martins PL, Bandeira FS, Fernandes CPH, Nogueira CEW, Brod CS, Recuero ALC 2008. Pesquisa de anticorpos anti-Brucela em animais de tração atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal de Pelotas. In: 35<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Anais... Gramado.
- Tahamtan Y, Namavari MM, Mohammadi G, Jula GM 2010. Prevalence of Brucellosis in Horse North-East of Iran. *J Equine Vet Sci* 30:376-377.

- Tel OY, Arserim NB, Keskin O 2011. Seroprevalence of Equine Brucellosis in Southeast Turkey. *YYU Vet Fak Derg* 22:181 – 183.
- Thomassian A 2005. *Enfermidades dos cavalos*, 4<sup>a</sup> ed., Livraria Varela, São Paulo, 573 pp.
- Tzaneva V, Ivanova S, Georgieva M, Tasheva E 2009. Investigation of the spread of brucellosis among human and animal populations in southeastern Bulgaria, 2007. *Euro Surveill* 14:1-5.
- Viana FC, Reis R, Santos WLM 1981. Inquérito sorológico para brucelose eqüina em Minas Gerais. *Arq Esc Vet UFMG* 33:431-435.
- Wadood F, Ahmad M, Khan A, Gul ST, Rehman N 2009. Seroprevalence of brucellosis in horses in and around Faisalabad. *Pakistan Vet J* 29:196-198.

### **5.3 ARTIGO 3**

#### **SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* EM EQUÍDEOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO**

**(Artigo publicado pelo periódico Pesquisa Veterinária Brasileira)**

## Situação epidemiológica da infecção pelo *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano<sup>1</sup>

Ruy B. Oliveira Filho<sup>2</sup>, Karla C. Malta<sup>3</sup>, Júnior M.B. Oliveira<sup>4</sup>, Pedro P.F. Albuquerque<sup>5</sup>, Rinaldo A. Mota<sup>5</sup>, Vania L. Assis Santana<sup>6</sup>, Leucio C. Alves<sup>7</sup> e José W. Pinheiro Júnior<sup>4\*</sup>

**ABSTRACT.-** Oliveira Filho R.B., Malta K.C., Baltazar J.M.O., Feitosa Neto P.P., Mota R.A., Assis Santana V.L., Alves L.C. & Pinheiro Jr J.W. 2012. [**Epidemiological situation of *Toxoplasma gondii* infection in equids from Brejo Paraibano microregion, Brazil.**] Situação epidemiológica da infecção pelo *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano, Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Doenças Infecto Contagiosas, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Avenida Bom Pastor, s/n., Boa Vista, Garanhuns, PE 55.296-901. \*Autor para correspondência: [jrwilton@uag.ufrpe.br](mailto:jrwilton@uag.ufrpe.br)

The objective of the study was to characterize the epidemiological situation of *Toxoplasma gondii* infection in equids from Brejo Paraibano microregion, Northeastern Brazil. Antibodies against *T. gondii* were investigated in samples of 257 equids (204 horses, 46 mules and seven donkeys) in 26 properties. For serological diagnosis was used the Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) and a cut-off of 1:64. The number of foci was found to be 46.1%. In the samples analyzed, the overall prevalence was 7.8% (C.I. 4.8-8.8). The prevalence was 8.3% (C.I. 4.9-13.0) for horses, 2.2% (C.I. 0.1-11.5) for mules and 28.6% (C.I. 3.7- 71.0) among donkeys. Logistic regression of the variables showed that the water source was a risk factor, because in those properties that supplied running water to the animals the risk of infection was 4.4 times higher than in those properties which provided standing water (OR 4.4; C.I. 1.0-19.0). This is the first report of the presence of antibodies against *T. gondii* in equids in this micro-region of Paraíba State. To reduce the risk of infection in these species, good quality water should be given to the animals, as well as access of cats to water sources and facilities where animals are kept must be avoided.

INDEX TERMS: Risk factors, equids, serology, *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis.

**RESUMO.-** Objetivou-se com o estudo caracterizar a situação epidemiológica da infecção por *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano, região Nordeste do Brasil. Anticorpos contra *T. gondii* foram pesquisados em 257 amostras de equídeos (204 equinos, 46 muares e sete asininos) em 26 propriedades. Para o diagnóstico sorológico utilizou-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e um ponto de corte de 1:64. O número de focos encontrado foi de 46,1%. Nas amostras analisadas, a prevalência geral foi de 7,8% (I.C. 4,8-8,8). A prevalência foi de 8,3% (I.C. 4,9-13,0) para os equinos, 2,2% (I.C. 0,1-11,5) para os muares e 28,6% (I.C. 3,7-71,0) entre os asininos. Na regressão logística das variáveis observou-se que a fonte de água foi um fator de risco, pois naquelas propriedades que forneciam água corrente para os animais o risco de infecção foi 4,4 vezes maior do que naquelas propriedades que forneciam água parada (OR 4,4; I.C. 1,0-19,0). Este é o primeiro relato da presença de anticorpos contra *T. gondii* em equídeos nessa microrregião do estado da Paraíba. Para diminuir os riscos de infecção nestas espécies, deve-se fornecer aos animais uma água de boa qualidade, bem como evitar acesso de gatos a fontes de água e instalações onde os animais são mantidos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Fatores de risco, equídeos, sorologia, toxoplasmose.

### INTRODUÇÃO

*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório que infecta a maioria das espécies de animais de sangue quente, incluindo as aves e o homem, na maior parte do mundo (Fraser 1996). A toxoplasmose é uma

<sup>1</sup> Recebido em 31 de maio de 2012.

Aceito para publicação em 30 de junho de 2012.

<sup>2</sup> Discente do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Campus de Dois Irmãos, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil.

<sup>3</sup> Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Centro de Ciências Agrárias, Cidade Universitária, Areia, PB 58397-000, Brasil.

<sup>4</sup> Laboratório de Doenças Infecto Contagiosas, Unidade Acadêmica de Garanhuns, UFRPE, Avenida Bom Pastor, s/n, Boa Vista, Garanhuns, PE 55296-901, Brasil. \*Autor para correspondência: [jrwilton@uag.ufrpe.br](mailto:jrwilton@uag.ufrpe.br)

<sup>5</sup> Laboratório de Doenças Infecto Contagiosas/DMV, UFRPE, Campus de Dois Irmãos, Recife, PE.

<sup>6</sup> Setor de Bacteriologia, Laboratório Nacional Agropecuário em Pernambuco, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA/LANAGRO-PE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Campus da UFRPE, Recife, PE 52171-030.

<sup>7</sup> Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE, Campus de Dois Irmãos, Recife, PE.

doença importante pelos danos reprodutivos em várias espécies de animais e principalmente nos humanos (Fialho et al. 2009).

Coccídeos em geral têm ciclos de vida complexos. Embora a maioria seja hospedeiro-específico, e apenas transmitido por um ciclo fecal-oral, *T. gondii* também pode ser transmitido por via transplacentária, e por carnivorismo. Há três estágios infecciosos de *T. gondii* para todos os hospedeiros: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos (Dubey 2004).

Exames sorológicos para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em equídeos foram realizados em vários países. Nos Estados Unidos foi relatada uma soroprevalência de 6,9% (Dubey et al. 1999a) e 0,4% (Dubey et al. 2003); mas dados de países latino americanos mostram que anticorpos para *T. gondii* são frequentes (Argentina, 13,1% e Costa Rica, 34,0%) (Dubey et al. 1999b, Dangoudoubiyam et al. 2011). Na Turquia, Akca et al. (2004) e Karatepe et al. (2010) relataram uma soropositividade em equinos de 20,6% na província de Kars, e na província de Nigde soropositividade de 7,2%, respectivamente. Anticorpos contra *T. gondii* também foram detectados em equinos na República Tcheca (Bártová et al. 2010). Shaapan et al. (2012) realizaram exames de 240 amostras de soro de cavalos de esporte no Cairo, Egito, utilizando Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), Teste de Aglutinação em Látex (LAT), ELISA e Aglutinação Direta Modificada (MAT), que revelaram 53,8%, 52,1%, 50,8% e 39,2% de animais positivos, respectivamente. Soropositividade em equinos de 2,6% utilizando a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e de aproximadamente 1% utilizando imunoblot foram obtidas na Coréia do Sul (Gupta et al. 2002). Balkaya et al. (2011) detectaram 62,0% de soropositividade em asininos procedentes da província de Erzurum, na Turquia. No Brasil os dados existentes em equídeos, revelam prevalências variando de 1,5% a 32,8% (Laranjeira, Ishizuka & Hyakutake 1985, Gazêta et al. 1997, Vidotto et al. 1997, Garcia et al. 1999, Mendonça et al. 2001, Neves et al. 2005, Locatelli-Dittrich et al. 2006, Langoni et al. 2007, Camossi, Silva & Langoni 2010, Coiro, Langoni & Silva 2012).

Em equinos, este parasito está associado com quadros de encefalomielite (Boughattas et al. 2011). Beech & Dodd (1974) relataram uma doença neurológica em equinos associada a organismos semelhantes ao *Toxoplasma*. No entanto, a infecção por *T. gondii* em equinos geralmente é inaparente, sendo caracterizada pela manutenção de títulos de anticorpos e presença de cistos teciduais (Langoni et al. 2007), progredindo subclínicamente e, portanto, o diagnóstico baseia-se principalmente no emprego de métodos sorológicos para detectar os anticorpos (Akca et al. 2004, Alanazi & Alyousif 2011).

Em função de o Brasil apresentar o maior rebanho de equinos na América Latina e da importância da toxoplasmose para a saúde pública, objetivou-se com esse estudo caracterizar a situação epidemiológica da infecção pelo *T. gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano.

## MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco com a licença nº 002/2012.

A microrregião do Brejo Paraibano está inserida na mesorregião do Agreste, e é composta por oito municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria (IBGE 2012). Para o estudo de prevalência o plano amostral foi dividido em dois estágios. No primeiro estágio, foram selecionadas todas as propriedades com criação de dez ou mais equídeos (unidades primárias de amostragem), visto que, são essas propriedades que realmente fazem parte da cadeia produtiva da equideocultura, totalizando 26 propriedades; no segundo, foi sorteado, de forma aleatória, um número pré-estabelecido de equídeos (unidades secundárias de amostragem). A amostra de cada propriedade foi calculada com o auxílio do programa Win Episcopo 2.0. Para compor a amostra do estudo da prevalência foi considerada uma prevalência de 50%, visto que não há dados sobre a ocorrência desta infecção nesta microrregião. Em cada propriedade também foi considerada uma confiança mínima de 95% e erro estatístico de 10%. Desta forma, foram coletadas 257 amostras sanguíneas de equídeos (equinos, asininos e muares) clinicamente saudáveis, de diferentes sexos e finalidade, no período compreendido entre julho e dezembro de 2011.

A escolha das unidades primárias de amostragem foi baseada no cadastro de propriedades rurais com equídeos, da Secretaria de Estado do Desenvolvimento da Agropecuária e da Pesca (SEDAP). A propriedade selecionada que, por motivos vários, não pôde ser visitada, foi substituída por outra, nas proximidades, com as mesmas características de produção. A propriedade selecionada que, no momento da visita, possuía menos que os dez equídeos previstos anteriormente também foi amostrada, e nesse caso foram coletadas amostras de todos os animais.

Apenas um dos oito municípios da microrregião não foi amostrado, pois, segundo o cadastro, não havia propriedades que atendessem ao critério de seleção de pelo menos dez equídeos. Os municípios pesquisados foram: Areia (n=42; 28 equinos, 1 asinino e 13 muares), Serraria (n=13; 9 equinos e 4 muares), Alagoa Grande (n=67; 54 equinos, 2 asininos e 11 muares), Bananeiras (n=108; 93 equinos, 03 asininos e 12

muares), Pilões (n=3; 3 muares), Borborema (n=7; 4 equinos, 1 asinino e 2 muares) e Alagoa Nova (n=17; 16 equinos e 1 muar).

Os equídeos eram criados a campo, semi-estabulados ou estabulados. Em relação à raça, os animais testados eram sem raça definida (SRD) (152), Quarto-de-milha (15), mestiços de Quarto-de-milha (74) e Manga-larga (16). Nesta microrregião, os equídeos são utilizados com as finalidades de esporte (vaquejada), reprodução, trabalho ou lazer. As idades dos animais foram agrupadas em três estratos: abaixo de 2,5 anos de idade (animais jovens), entre 2,5 e 11 anos (animais em idade reprodutiva) e acima de 11 anos (animais idosos). Quanto ao sexo 116 eram fêmeas e 141 machos.

As amostras de sangue foram obtidas por venopunção da jugular, com sistema de colheita a vácuo, em tubos siliconizados com capacidade para 10 mL. As amostras sanguíneas colhidas foram mantidas em temperatura ambiente até a retração do coágulo sanguíneo, em seguida transportadas ao laboratório sob refrigeração, onde foram centrifugadas, durante 10 minutos, a 900g. O soro obtido foi transferido para tubos de polipropileno sendo armazenados em temperatura de freezer a -20°C, até o momento da realização dos testes sorológicos.

Para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* foi utilizada a técnica de Imunofluorescência Indireta de acordo com Camargo (1974), utilizando ponto de corte 64. A RIFI foi realizada em duas fases, sendo a primeira de caráter qualitativo, triagem (1:64), e a segunda de caráter quantitativo (titulação). Foram utilizados soros controles negativo e positivo com títulos previamente conhecidos. A reação positiva foi caracterizada pela fluorescência intensa total na superfície dos taquizoítos, adotando-se como positivos todos os soros reagentes na diluição 1:64 e negativas as reações que possuíam fluorescência apical ou parcial. A leitura foi realizada em microscópio epifluorescente.

Em cada propriedade amostrada foram aplicados questionários epidemiológicos, elaborados para obter informações sobre o tipo de exploração e as práticas de manejo empregadas, de forma a permitir a realização do estudo de fatores de risco. No total, 21 variáveis foram incluídas na análise. As variáveis foram agrupadas por: a) dados individuais: espécie (equino, asinino e muar), faixa etária (<2,5 anos, 2,5-11 anos e >11 anos) e sexo (macho e fêmea), b) dados do rebanho: área (rural e peri-urbana), tamanho do rebanho (<10, 10-30 e >30), presença de outras espécies de animais domésticos (gatos e aves), presença de animais silvestres, criação consorciada com outros animais, sistema de criação (a campo, semi-estabulado e estabulado), alimentação (com e sem suplementação) e fornecimento de feno, c) biossegurança: limpeza e desinfecção, fontes de água (parada, corrente e parada+corrente), acesso de gatos à ração e à fonte de água, aluguel de pasto, tipo de rebanho (aberto e fechado), procedência dos animais (comerciantes, leilão/exposição e ambos) e quarentena.

Foi utilizada a análise estatística descritiva para cálculos das frequências relativa e absoluta dos resultados obtidos no teste sorológico. Para identificar os fatores de risco associados à infecção, foi realizada uma análise univariada das variáveis de interesse através do teste qui-quadrado de Pearson, ou Exato de Fisher, quando necessário. Posteriormente foi realizada uma análise de regressão logística, considerando como variável dependente o exame sorológico (positivo ou negativo). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística <0,20. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (Hosmer & Lemeshow 1989). A propriedade foi considerada como foco quando foi detectado pelo menos um animal positivo. O programa *SPSS for Windows*, versão 18,0 – *Statistical Package for the Social Science*, foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos.

## RESULTADOS

Dos equídeos examinados, 7,8% (20/257) foram positivos ao teste sorológico, com títulos variando de 1:64 a 1:256 (Quadro 1).

Dos rebanhos equídeos examinados 46,1% (12/26) tiveram pelo menos um animal soropositivo, sendo considerados como focos. Dos sete municípios pesquisados, cinco (71,4%) possuíam animais positivos. As soroprevalências nos municípios amostrados foram: 28,6% em Borborema (2/7); 11,8% em Alagoa Nova (2/17); 10,4% em Alagoa Grande (7/67); 6,5% em Bananeiras (7/108); 4,8% em Areia (2/42); e 0% em Serraria (0/13) e Pilões (0/3). Em relação às áreas rural e peri-urbana, observou-se que 7,2% (16/221) dos animais procedentes da área rural e 11,1% (4/36) da peri-urbana foram positivos.

Quanto à idade observou-se que todos os animais positivos tinham idade variando entre 8 meses e 17 anos. Analisando os resultados por estrato etário, constatou-se que 7,0% de soropositividade foi observada nos equídeos com menos de 2,5 anos, 9,8% entre 2,5 e 11 anos, e 2,0% acima de 11 anos. Quanto ao sexo, dez (8,6%) fêmeas e dez (7,1%) machos foram soropositivos.

Ao analisar os fatores de risco na análise univariada observou-se que as variáveis espécie (p=0,042), número de equídeos na propriedade (p=0,002), fonte de água (p=0,009) e quarentena (p=0,037)

apresentaram associação significativa (Quadros 2 e 3). Na regressão logística das variáveis observou-se que a fonte de água foi um fator de risco, pois naquelas propriedades que forneciam água corrente para os animais o risco de infecção foi 4,4 vezes maior do que naquelas propriedades que forneciam água parada (OR 4,4; I.C. 1,0 – 19,0) (Quadro 4).

## DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo epidemiológico na microrregião do Brejo Paraibano a analisar a infecção por *T. gondii* em equídeos. Nesta microrregião, 7,8% foram positivos na RIFI. Estudos realizados em diversas partes do mundo revelaram prevalências que variam de 0,4% a 71,2% (Dubey et al. 2003, Akca et al. 2004, Jakubek, Lundén & Ugglá 2006, Ghazy, Shaapan & Abdel-Rahman 2007, Göz et al. 2007, Güçlü et al. 2007, Bártová et al. 2010, Hajjalilo et al. 2010, Karatepe et al. 2010, Kouam et al. 2010, Alanazi & Alyousif 2011, Boughattas et al. 2011, Dangoudoubiyam et al. 2011, Shaapan et al. 2012, García-Bocanegra et al. 2012). No Brasil, resultados próximos ao do presente trabalho foram obtidos por Langoni et al. (2007) e Gazêta et al. (1997), que encontraram 138 (7,0%) amostras positivas no MAT e 4,42% na RIFI, respectivamente.

A diferença de prevalência entre os estudos realizados pode ser devido à amostragem realizada, às condições ambientais, técnicas sorológicas e interpretação dos resultados quanto ao ponto de corte utilizado. Outros fatores também podem influenciar nos resultados, tais como: tipo de criação (extensiva, semi-intensiva e intensiva), tipo de alimentação (com ou sem suplementação), fonte de água, época em que as amostras foram coletadas, e presença de felídeos.

É difícil comparar precisamente os resultados desta pesquisa com estudos publicados anteriormente, porque diferentes planos amostrais, métodos de diagnóstico e pontos de corte foram utilizados. Analisando o método de diagnóstico para infecção por *T. gondii* em equídeos constata-se que o teste ouro permanece desconhecido, uma vez que existe um menor número de estudos em equinos quando se compara com outras espécies domésticas (Camossi, Silva & Langoni 2010). A sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos em equinos são pouco conhecidas (Shaapan et al. 2012). Na literatura consultada os estudos de inquérito epidemiológicos em outras partes do mundo geralmente utilizam o MAT como método de diagnóstico (Dubey et al. 1999a, Dubey et al. 1999b, Shaapan et al. 2012), enquanto no Brasil, a RIFI é mais utilizada (Laranjeira, Ishizuka & Hyakutake 1985, Gazêta et al. 1997, Vidotto et al. 1997, Garcia et al. 1999, Neves et al. 2005, Locatelli-Dittrich et al. 2006, Coiro, Langoni & Silva 2012). A utilização da RIFI com ponto de corte de 1:64 diminui o número de reações falso-positivas que podem ocorrer em baixas diluições e tem maior concordância com outros testes como o MAT. Segundo Coiro, Langoni & Silva (2012), para baixas diluições de soro, reações inespecíficas podem ocorrer com outros parasitos, tais como *Hammondia hammondi*.

Acredita-se que a baixa prevalência encontrada nesse estudo esteja relacionada à resistência dos equídeos, hipótese reforçada por Mendonça et al. (2001), que atribuem a baixa prevalência encontrada à resistência natural dos equídeos à infecção pelo *T. gondii*.

A maior titulação (256) só foi encontrada na espécie equina. Este fato pode ser justificado pela maior parte dos equinos terem acesso à água corrente, que foi considerada um fator de risco importante, provavelmente aumentando a exposição desses animais a oocistos e conseqüentemente o nível de anticorpos.

Ao analisar a prevalência por espécie, observou-se que 8,3% (17/204) dos equinos, 2,2% (1/46) dos muare e 28,6% (2/7) dos asininos foram positivos. García-Bocanegra et al. (2012) obtiveram os seguintes valores de prevalência: 10,8% em equinos, 15,0% em muare e 25,6% em asininos. A maior prevalência em asininos pode ser justificada pelo fato de esses animais possuírem menor valor zootécnico, e conseqüentemente os proprietários não despendem muitos cuidados sanitários com esses animais. El-Ghaysh (1998), trabalhando apenas com asininos, encontrou uma alta prevalência em comparação a prevalências de cavalos obtidas em outros estudos, e indica que esse fato pode ser devido ao contato entre asininos e gatos em torno de habitações. García-Bocanegra et al. (2012) atribuem a alta prevalência em asininos a eles serem mantidos mais livres com maior acesso a parasitos. Animais que não são criados livremente têm contato limitado com fezes de felídeos (Kouam et al. 2010). Neste sentido, constatou-se uma menor prevalência em animais mantidos estabulados (0,0%) versus aqueles mantidos semi-estabulados (8,8%) ou a campo (6,3%), embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas.

O elevado número de focos, 46,1%, possibilita assinalar a microrregião do Brejo Paraibano como enzoótica para infecção por *T. gondii*. Especificamente, o município de Borborema apresentou a maior prevalência, que pode ser justificada pela fonte de água exclusivamente corrente fornecida aos animais. Não foi observada neste estudo diferença estatisticamente significativa no que se refere às variáveis idade e sexo, o que confirma os resultados verificados por Mendonça et al. (2001) e Camossi et al. (2010). Isso confirma a hipótese de que não existe diferença de susceptibilidade com relação a essas duas variáveis. Entretanto, observou-se uma maior prevalência nos animais com idade entre 2,5 e 11 anos, o que está de acordo com

Boughattas et al. (2011), que relatam que a soroprevalência em equinos adultos foi significativamente maior do que aquela de equinos jovens, fornecendo evidências adicionais para o aumento do risco de infecção por *T. gondii* com o aumento de idade através da exposição cumulativa ao longo da vida a oocistos infectantes a partir do ambiente.

Gazêta et al. (1997), no Rio de Janeiro, encontraram maior prevalência de animais positivos manejados em ambiente urbano comparada com a de animais positivos em áreas rurais, o que concorda com os resultados apresentados, considerando áreas rurais e peri-urbanas. Isto pode ser justificado pela maior concentração de gatos em áreas urbanas e peri-urbanas. El-Ghaysh (1998) indica que maiores prevalências podem ser devido ao contato entre os animais e gatos em torno de habitações.

Nesse estudo não foi observada associação significativa entre presença de gatos e de animais silvestres e positividade para infecção por *T. gondii* em equídeos. García-Bocanegra et al. (2012) também não encontraram diferenças com relação à presença de gatos. Apesar de não ter havido associação significativa, os proprietários devem manter felídeos longe das instalações, pastagens e fontes de água, pois estas são as espécies de maior importância epidemiológica no ciclo de vida do parasito, porque eles são os hospedeiros que podem excretar o oocisto, a fase ambientalmente resistente (Dubey & Jones 2008). Acredita-se que, uma parte dos animais positivos também pode ter se infectado em outra propriedade, pois uma maior prevalência foi encontrada em rebanhos abertos, apesar de não haver associação significativa. Desta forma, sugere-se que ao introduzir novos animais em uma propriedade, devem-se adotar as devidas medidas sanitárias para que se evite a introdução de agentes infecciosos.

A fonte de água exclusivamente corrente foi considerada um fator de risco importante; logo, os animais podem ter se infectado pela ingestão de água que foi contaminada a montante do ponto do curso de água que passava na propriedade. Quinze propriedades forneciam água corrente aos animais, das quais foram encontrados animais positivos em oito (53,3%). Aramini et al. (1999) observaram fezes de puma (*Felis concolor*) ao lado de córregos que, eventualmente, drenavam para reservatórios de água associados a um surto de toxoplasmose em humanos.

Propriedades com mais de 30 equídeos apresentaram maior prevalência de animais positivos. Em rebanhos maiores não há diferenças individuais quanto à susceptibilidade à infecção, mas algumas características desses rebanhos podem facilitar a transmissão de certos agentes como o *T. gondii*: maior frequência de reposição de animais e maior número de problemas relacionados ao controle sanitário. Portanto, em propriedades com maior número de animais, os cuidados sanitários devem ser reforçados.

## CONCLUSÃO

A soroprevalência geral de *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano foi relativamente baixa, entretanto o número de focos foi elevado. Isto significa que os animais estão (ou estiveram) em contato com este parasito e que seus tecidos podem abrigar cistos teciduais e assim representar uma fonte de infecção para outras espécies, incluindo os hospedeiros definitivos. Os proprietários devem fornecer aos seus animais uma água de boa qualidade, para diminuir os riscos de infecção, bem como se deve evitar acesso de gatos a fontes de água. Considerando o valor zootécnico de alguns animais, é importante avaliar a importância clínica da toxoplasmose em equídeos e considerar os aspectos relacionados à saúde pública.

## REFERÊNCIAS

- Akca A., Babur C., Arslan M.O., Gicik Y., Kara M. & Kilic S. 2004. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in the province of Kars, Turkey. *Vet Med.* 49:9-13.
- Alanazi A.D. & Alyousif M.S. 2011. Prevalence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Horses in Riyadh Province, Saudi Arabia. *J. Parasitol.* 97:943- 945.
- Aramini J.J., Stephen C., Dubey J.P., Engelstoft C., Schwantje H. & Ribble C.S. 1999. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiol. infect.* 122:305-315.
- Balkaya I., Babur C., Celebi B. & Utuk A.E. 2011. Seroprevalence of toxoplasmosis in donkeys in Eastern Turkey. *Israel J. Vet. Med.* 66:39-42.
- Bártová E., Sedlák K., Syrová M. & Literák I. 2010. *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in the Czech Republic. *Parasitol. Res.* 107:783-785.
- Beech J. & Dodd D.C. 1974. Toxoplasma-like Encephalomyelitis in the Horse. *Vet. Pathol.* 11: 87-96.
- Boughattas S., Bergaoui R., Essid R., Aoun K. & Bouratbine A. 2011. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among horses in Tunisia. *Parasit Vectors.* 4:218.
- Camargo M.E. 1974. Introdução às técnicas de imunofluorescência. *Rev. Bras. Patol. Clin.* 10:143-169.

- Camossi L.G., Silva A.V. & Langoni H. 2010. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equinos na região de Botucatu-SP. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 62:484-488.
- Coiro C.J., Langoni H. & Silva R.C. 2012. Epidemiological Aspects in the *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* Infection in Horses from Botucatu, São Paulo, Brazil. J. equine vet. sci. 1:4. (no prelo).
- Dangoudoubiyam S., Oliveira J.B., Víquez C., Gómez-García A., González O., Romero J.J., Kwok O.C.H., Dubey J.P. & Howe D.K. 2011. Detection of antibodies against *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp., and *Toxoplasma gondii* in horses from Costa Rica. J. parasitol. 97:522-524.
- Dubey J.P. 2004. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. Vet. Parasitol. 126:57–72.
- Dubey J.P. & Jones J.L. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. Int J Parasitol. 38:1257–1278.
- Dubey J.P., Mitchell S.M., Morrow J.K., Rhyan J.C., Stewart L.M., Granstrom D.E., Romand S., Thulliez P., Saville W.J. & Lindsay D.S. 2003. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Toxoplasma gondii* in wild horses from Central Wyoming. J. parasitol. 89:716-720.
- Dubey J.P., Thulliez P., Romand S., Kwok O.C.H., Shen S.K. & Gamble H.R. 1999a. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. Vet. Parasitol. 86:235–238.
- Dubey J.P., Venturini M.C., Venturini L., McKinney J. & Pecoraro M. 1999b. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. Vet. Parasitol. 86:59-62.
- El-Ghaysh A. 1998. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Egyptian donkeys using ELISA. Vet. Parasitol. 80:71–73.
- Fialho C.G., Teixeira M.C. & Araújo F.A.P. 2009. Toxoplasmose animal no Brasil. Acta sci. vet. 37:1-23.
- Fraser C.M. 1996. Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. 7. ed. Roca, São Paulo. p.565.
- García-Bocanegra I., Cabezón O., Arenas-Montes A., Carbonero A., Dubey J.P., Perea A. & Almería S. 2012. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in equids from Southern Spain. Parasitol Int. doi:10.1016/j.parint.2012.02.003. (no prelo).
- Garcia J.L., Navarro I.T., Ogawa L. & Oliveira R.C. 1999. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná - Brasil. Cienc. Rural. 29:91-97.
- Gazêta G.S., Dutra A.E.A., Norberg A.N., Serra-freire N.M., Souza W.J.S., Amorim M. & Lopes L.M.S. 1997. Freqüência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de eqüinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 6:87-91.
- Ghazy A.A., Shaapan R.M. & Abdel-Rahman E.H. 2007. Comparative serological diagnosis of toxoplasmosis in horses using locally isolated *Toxoplasma gondii*. Vet. Parasitol. 145:31–36.
- Göz Y., Babür C., Aydın A. & Kiliç S. 2007. Seroprevalence of toxoplasmosis, brucellosis and listeriosis in horses in Hakkari, eastern region of Turkey. Rev Med Vet. 158:534-539.
- Güçlü Z., Karaer Z., Babür C. & Kiliç S. 2007. Investigation of *Toxoplasma gondii* antibodies in sport horses bred in Ankara province. Turkiye Parazitol. Derg. 31:264-267.
- Gupta G.D., Lakritz J., Kim J., Kim D., Kim J. & Marsh A.E. 2002. Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island, South Korea. Vet. Parasitol. 106:193-201.
- Hajjalilo E., Ziaali N., Harandi M.F., Saraei M. & Hajjalilo M. 2010. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sport horses from Qazvin, Iran. Trop. Anim. Health Prod. 42:1321-1322.
- Hosmer D.W. & Lemeshow S. 1989. Applied Logistic Regression. John Wiley and Sons, New York. 241p.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=pb>> Acesso em 4 mai. 2012.
- Jakubek E.B., Lundén A. & Uggla A. 2006. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. Vet. Parasitol. 138:194-199.
- Karatepe B., Babur C., Karatepe M. & Kilic S. 2010. Seroprevalence of toxoplasmosis in horses in Nigde Province of Turkey. Trop. Anim. Health Prod. 42:385-389.
- Kouam M.K., Diakou A., Kanzoura V., Papadopoulos E., Gajadhar A.A. & Theodoropoulos G. 2010. A seroepidemiological study of exposure to *Toxoplasma*, *Leishmania*, *Echinococcus* and *Trichinella* in equids in Greece and analysis of risk factors. Vet. Parasitol. 170:170-175.
- Langoni H., Silva A.V., Pezerico S.B. & Lima V.Y. 2007. Utilization of modified agglutination test and indirect immunofluorescent antibody test for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed horses. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 44:27-32.
- Laranjeira N.L., Ishizuka M.M. & Hyakutake S. 1985. Prevalência da toxoplasmose equina avaliada pela técnica de imunofluorescência indireta, Mato Grosso do Sul, Brasil. Bol. Oficina Sanit. Panam. 99:158-162.

- Locatelli-Dittrich R., Dittrich J.R., Richartz R.R.T.B., Joineau M.E.G., Antunes J., Pinckney R.D., Deconto I., Hoffmann D.C.S. & Thomaz-Soccol V. 2006. Investigation of *Neospora* sp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana State, Southern Brazil. *Vet. Parasitol.* 135:215-221.
- Mendonça A.O., Cerqueira E.J.L., Araujo W.N., Moraes-Silva E., Shimabukuro F.H., Sarkis D.T., Sherlock I. & Langoni H. 2001. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. *Semina, Ciênc. Agrar.* 22:115-118.
- Naves C.S., Ferreira F.A., Carvalho F.S. & Costa G.H. 2005. Soroprevalência da toxoplasmose em equinos da raça mangalarga marchador no município de Uberlândia, Minas Gerais. *Vet. Notícias, Uberlândia,* 11:45-52.
- Shaapan R.M., Abo-ElMaaty A.M., Abd El-Razik K.A. & Abd El-Hafez S.M. 2012. PCR and serological assays for detection of *Toxoplasma gondii* infection in sport horses in Cairo, Egypt. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 7:158- 165.
- Vidotto O., Kano F.S., Freire R.L., Mitsuka R., Ogawa L., Bonesi G., Navarro I.T. & Franciscon F.S.G. 1997. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em equinos procedentes de quatro estados (SP, PR, MS e MT) abatidos em Apucarana, PR. *Semina, Ciênc. Agrar.* 18:9:13.

### Quadros

**Quadro 1. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e titulação em equídeos, na microrregião do Brejo Paraibano**

Espécie	Nº amostras	Nº positivos	%	Títulos		
				1:64	1:128	1:256
Equina	204	17	8,3	4 (2,0%)	8 (3,9%)	5 (2,4%)
Asinina	7	2	28,6	1 (14,3%)	1 (14,3%)	0
Muar	46	1	2,2	1 (2,2%)	0	0
Total	257	20	7,8	6(30%)	9(45%)	5(25%)

**Quadro 2. Análise univariada dos fatores de risco (dados individuais e de rebanho) associados à infecção por *T. gondii* em equídeos no Brejo Paraibano**

Variáveis	Sorologia				Total		Valor p
	Positivo		Negativo		FA	FR%	
	FA	FR%	FA	FR%			
<b>Área</b>							
Rural	16	7,2	205	92,8	221	100	0,301
Peri-urbana	4	11,1	32	88,9	36	100	
<b>Espécie</b>							
Equino	17	8,3	187	91,7	204	100	0,042*
Muar	1	2,2	45	97,8	46	100	
Asinino	2	28,6	5	71,4	7	100	
<b>Sexo</b>							
Macho	10	7,1	131	92,9	141	100	0,410
Fêmea	10	8,6	106	91,4	116	100	
<b>Idade (anos)</b>							
<2,5	3	7,0	40	93,0	43	100	0,183
Entre 2,5 entre 11	16	9,8	147	90,2	163	100	
Acima de 11	1	2,0	50	98,0	51	100	
<b>Sistema de criação</b>							
A campo	6	6,3	90	93,8	96	100	0,699
Semi-estabulado	14	8,8	145	91,2	159	100	
Estabulado	-	-	2	100	2	100	
<b>Quantidade de equídeos na propriedade</b>							
<10	3	4,6	62	95,4	65	100	0,002*
Entre 10 e 30	10	6,1	153	93,9	163	100	
>30	7	24,1	22	75,9	29	100	
<b>Criação consorciada</b>							
Sim	18	8,3	199	91,7	217	100	0,368
Não	2	5,0	38	95,0	40	100	
<b>Presença de aves</b>							
Sim	15	9,3	146	90,7	161	100	0,172
Não	5	5,2	91	94,8	96	100	
<b>Presença de Gatos</b>							
Sim	10	5,8	163	94,2	173	100	0,073
Não	10	11,9	74	88,1	84	100	
<b>Presença de Animais Silvestres</b>							
Sim	15	7,7	180	92,3	195	100	0,554
Não	5	8,1	57	91,9	62	100	
<b>Alimentação</b>							
Com suplementação	15	7,9	174	92,1	189	100	0,557
Sem suplementação	5	7,4	63	92,6	68	100	
<b>Feno</b>							
Sim	1	7,7	12	92,3	13	100	0,660
Não	19	7,8	225	92,2	244	100	

\* Associação significativa ao nível 5%.

**Quadro 3. Análise univariada dos fatores de risco (biosseguridade) associados à infecção por *T. gondii* em equídeos no Brejo Paraibano**

Variáveis	Sorologia				Total		Valor p
	Positivo		Negativo		FA	FR%	
	FA	FR%	FA	FR%			
<b>Fonte de água</b>							
Parada	4	4,3	90	95,7	94	100	0,009 <sup>a</sup>
Corrente	13	14,9	74	85,1	87	100	
Parada + corrente	3	3,9	73	96,1	76	100	
<b>Limpeza<sup>b</sup></b>							
Sim	18	7,9	211	92,1	229	100	0,633
Não	1	8,3	11	91,7	12	100	
<b>Uso de desinfetantes<sup>b</sup></b>							
Sim	1	4,8	20	95,2	21	100	0,568
Não	17	8,2	191	91,8	208	100	
<b>Gatos têm acesso à ração<sup>b</sup></b>							
Sim	-	-	13	100	13	100	0,325
Não	19	8,5	204	91,5	223	100	
<b>Gatos têm acesso à fonte de água</b>							
Sim	5	6,8	68	93,2	73	100	0,475
Não	15	8,2	169	91,8	184	100	
<b>Aluguel de pasto</b>							
Sim	2	9,1	20	90,9	22	100	0,528
Não	18	7,7	217	92,3	235	100	
<b>Tipo do rebanho</b>							
Aberto	19	8,3	210	91,7	229	100	0,331
Fechado	1	3,6	27	96,4	28	100	
<b>Procedência dos animais<sup>b</sup></b>							
Comerciante	16	8,0	183	92,0	199	100	0,864
Leilão/exposição	2	11,8	15	88,2	17	100	
Ambos	1	7,7	12	92,3	13	100	
<b>Realiza quarentena</b>							
Sim	12	12,4	85	87,6	97	100	0,037 <sup>a</sup>
Não	8	5,0	152	95,0	160	100	

<sup>a</sup> Associação significativa ao nível 5%, <sup>b</sup> Base diferente.

**Quadro 4. Regressão logística dos fatores de risco associados à infecção por *T. gondii* em equídeos no Brejo Paraibano**

Variáveis	Valor de p	OR <sup>b</sup>	IC 95% <sup>c</sup>	Coeficiente	S.E. <sup>d</sup>
<b>Fonte de água</b>					
Corrente/Parada	0,047 <sup>a</sup>	4,4	1,0 19,0	1,482	0,747
Corrente + Parada/ Parada	0,944	1,0	0,2 5,2	0,057	0,820

<sup>a</sup> Associação significativa ao nível 5%, <sup>b</sup> Odds ratio (Razão de chance), <sup>c</sup> Intervalo de confiança de 95%, <sup>d</sup> Erro padrão da estimativa.

## 6 CONCLUSÃO

- Apesar de nenhum animal ter sido reagente para *Brucella* spp., muitos deles eram mantidos sob condições que podem favorecer a transmissão do agente.
- Em relação à *Leptospira* spp., os resultados indicam que os animais mantiveram contato direto ou indireto com fontes de infecção, sendo encontrado um elevado número de focos, o que indica uma ampla distribuição na microrregião.
- Os sorovares de *Leptospira* spp. mais prevalentes foram: Panama, Grippytyphosa e Pyrogenes.
- A maioria das propriedades apresentou baixa prevalência da infecção por *Leptospira* spp. Alguns sorovares estão amplamente distribuídos, enquanto outros foram mais frequentes em determinadas áreas. Não houve relação entre prevalência da infecção por *Leptospira* spp. e pluviosidade. Algumas áreas apresentaram maior densidade de focos, sendo necessária intervenção para o controle da infecção.
- A soroprevalência geral de *T. gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano foi relativamente baixa, entretanto o número de focos foi elevado.
- A faixa etária entre 2,5 e 11 anos foi considerada um fator de proteção em relação à infecção por *Leptospira* spp., e a água corrente um fator de risco em relação à infecção por *T. gondii*.
- Maior prevalência das infecções por *Leptospira* spp. e *T. gondii* foi observada nos asininos, sendo necessários outros estudos para determinar a susceptibilidade dessa espécie a esses e outros agentes.
- Os proprietários devem fornecer aos seus animais uma água de boa qualidade, para diminuir os riscos de infecção por esses agentes, bem como se deve evitar acesso de gatos, roedores e outros animais a fontes de água, pastagens e instalações onde os equídeos são mantidos.
- Neste estudo, as medidas de biossegurança, como a quarentena, não tiveram associação com as prevalências das infecções. No entanto, essas práticas devem ser adotadas para evitar a introdução e disseminação de diversos patógenos.

## APÊNDICES

### I

#### Questionário Epidemiológico

Questionário:

Nome da propriedade:

Número da propriedade:

Município:

Nome do criador:

Coordenadas:

Telefone:

Data da visita:

Quantidade de animais amostrados na propriedade. \_\_\_\_\_ Equídeos      \_\_\_\_\_ Bovídeos

1. Tipo de exploração.

Esporte     Reprodução     Trabalho     Outra, qual? \_\_\_\_\_

2. Tipo de criação.

Estabulado     Semi-estabulado     A campo     Outra, qual? \_\_\_\_\_

3. Raça de equídeos predominante. \_\_\_\_\_

4. Quantidade de equídeos na propriedade. \_\_\_\_\_

5. Contato com outras espécies domésticas.  Sim     Não

Bovinos     Cães     Suínos     Ovinos     Caprinos     Aves   

Gatos  Outras,

quais? \_\_\_\_\_

6. Contato com animais silvestres.  Sim     Não

Quais? \_\_\_\_\_

7. Quantidade de bovídeos na propriedade. \_\_\_\_\_

8. Vacina bovídeos contra brucelose?  Sim     Não

9. Abate de animais na propriedade.  Sim     Não

10. Aluguel de pastos.  Sim     Não

11. Pastos comuns com outras propriedades.  Sim     Não

12. Pastos alagados.  Sim     Não

13. Assistência veterinária.  Sim     Não

14. Realiza testes diagnósticos em equinos?  Sim     Não

Quais? \_\_\_\_\_

15. Realiza testes diagnósticos em bovídeos?  Sim  Não  
 Brucelose  Outros. Quais? \_\_\_\_\_
16. Ocorrência de abscessos ou fístulas na nuca ou cernelha.  Sim  Não
17. Manejo reprodutivo.  
 Monta natural  Inseminação artificial  Ambos
18. Destino da placenta e dos fetos abortados. \_\_\_\_\_
19. Compra reprodutores em leilão?  Sim  Não
20. Compra reprodutores de comerciantes de equídeos ou bovinos?  Sim  Não
21. Venda de fêmeas ou machos reprodutores.  Sim  Não
22. Vende reprodutores em leilão?  Sim  Não
23. Vende em exposição?  Sim  Não
24. Compra em exposição?  Sim  Não
25. Piquete de parição.  Sim  Não
26. Ocorrência de aborto.  Sim  Não
27. Ocorrência de retenção de placenta.  Sim  Não
28. Ocorrência de repetição de cio.  Sim  Não
29. Ocorrência de potros ou bezerros fracos.  Sim  Não. Qual? \_\_\_\_\_
30. Ocorrência de orquite.  Sim  Não
31. Algum caso de brucelose em bovídeos na propriedade?  Sim  Não
32. Realiza quarentena quando adquire animais?  Sim  Não
33. Quais exames realiza na quarentena? \_\_\_\_\_

## II



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**QUESTIONÁRIO INVESTIGATIVO COMPLEMENTAR PARA BRUCELOSE,  
LEPTOSPIROSE E TOXOPLASMOSE**

FICHA Nº:

PROPRIEDADE Nº

DATA: / /

INVESTIGADOR:

**IDENTIFICAÇÃO****Fazenda:****Proprietário:****Endereço:****Município:****Contatos:****Coordenada geográfica:****Precipitação anual:****Temperatura média anual:**

**Área:** ( ) Urbana      ( ) Rural      ( ) Peri-Urbana

**DADOS DO REBANHO****Número de animais:****Fêmeas:****Machos:****Área destinada aos equídeos:****2) Tipo de criação**

a) A campo

b) Semi-estabulado

c) Estabulado

**3) Tipo de exploração****1) Espécie:**

a) Equino

b) Asinino

c) Muar

a) Esporte

b) Reprodução

c) Trabalho

d) Lazer

**4) Raça**

- a) Pura
- b) Mestiça

**5) Criação consorciada com outros animais:**

- a) Bovinos
- b) Caprinos
- c) Ovinos
- d) Suínos

**6) Local de contato com outras espécies:**

- a) Pasto
- b) Instalações
- c) Aguadas

**7) Presença de animais silvestres**

- a) Sim
- b) Não

**8) Presença de cães**

- a) Sim
- b) Não

**9) Presença de gatos**

- a) Sim
- b) Não

**10) Presença de roedores**

- a) Sim
- b) Não

**11) Alimentação**

- a) Com suplementação
- b) Sem suplementação

**12) Fornece silagem**

- a) Sim
- b) Não

**13) Fornece feno**

- a) Sim
- b) Não

**14) Fonte de água**

- a) Água tratada
- b) Córregos e riachos
- c) Açudes

**15) Acesso à água de superfície**

- a) Sim
- b) Não

**16) Utilização de esterqueira**

- a) Sim
- b) Não

**17) Tipo de trabalho**

- a) Assalariado
- b) Familiar

**INSTALAÇÕES****18) Tipo de instalação**

- a) Cama
- b) Chão batido
- c) Cimentado

**19) Realiza limpeza das instalações**

- a) Sim
- b) Não

**20) Periodicidade da limpeza**

- a) Diariamente
- b) Semanalmente
- c) Quinzenalmente
- d) Mensalmente

**21) Utiliza desinfetantes**

- a) Sim
- b) Não

**22) Cães tem acesso ao local de armazenamento da ração**

- a) Sim
- b) Não

**23) Gatos têm acesso ao local de armazenamento da ração**

- a) Sim
- b) Não

**24) Já observou ratos no local de armazenamento da ração**

- a) Sim
- b) Não

**25) Gatos têm acesso à fonte de água dos animais**

- a) Sim
- b) Não

**26) Roedores têm acesso à fonte de água dos animais**

- a) Sim
- b) Não

**MANEJO SANITÁRIO****27) Tipo de rebanho**

- a) aberto
- b) fechado

**28) Procedência dos animais**

- a) comerciantes de animais
- b) exposição/leilão
- c) feira livre

**29) Realização de quarentena**

- a) Sim
- b) Não

**30) Já vacinou contra leptospirose**

- a) Sim
- b) Não

**31) Quais sorovares**

---

**32) Há quanto tempo?**

---

**33) Já realizou exame contra leptospirose**

- a) Sim
- b) Não

**34) Realiza isolamento dos animais doentes**

- a) Sim
- b) Não

**35) Possui assistência veterinária**

- a) Sim
- b) Não

**36) Realiza controle de roedores**

- a) Sim
- b) Não

## MANEJO REPRODUTIVO

**37) As fêmeas apresentam problemas reprodutivos**

- a) Sim
- b) Não

**38) Quais**

- a) aborto
- b) retenção de placenta
- c) crias fracas
- d) nascimento de animais mortos
- e) nascimento de animais prematuros

**39) Tipo de cobertura**

- a) Monta natural
- b) Inseminação Artificial
- c) Transferência de embriões

## OUTROS SINAIS CLÍNICOS

**40) Alterações nervosas**

- a) Sim
- b) Não

**41) Alterações oftalmológicas**

- a) Sim
- b) Não

**42) Hemoglobinúria**

- a) Sim
- b) Não

## ANEXOS

### I - Normas do periódico Journal of Equine Veterinary Science

#### INTRODUCTION

Please consult this Guide for Authors for further details on the requirements for submitting your paper to *Journal of Equine Veterinary Science*. The guidelines described in this document should be adhered to carefully, to ensure high-quality and rapid publication of your manuscript.

*Journal of Equine Veterinary Science (JEVS)* is an international publication designed for the practicing equine veterinarian, equine researcher, and other equine health care specialist. Published monthly, each issue of *JEVS* includes original research, reviews, case reports, short communications, and clinical techniques from leaders in the equine veterinary field, covering such topics as laminitis, reproduction, infectious disease, parasitology, behavior, podology, internal medicine, surgery and nutrition. *JEVS* is also an official publication of the Equine Science Society.

#### Types of article

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Case Reports
4. Short Communications
5. Clinical Techniques

*Original Research:* Research or extensive clinical reports containing significant new findings. The material presented should be original and not have been published elsewhere, except in a preliminary form. Papers will be reviewed by referees familiar with the subject matter of the paper. Revisions are likely to be expected.

*Review Articles* should cover subjects falling within the scope of the journal, which are of active current interest. Papers need not contain original work or ideas. They will be reviewed for completeness, accuracy, style and suitability of content by referees familiar with the subject and the Editor-in-Chief. Revisions may be requested

*Case Reports* are practitioner-oriented reports meant to communicate the facts of an interesting case or series of cases. Papers will be peer reviewed. Revisions are likely to be expected. The major concerns of the critique will be accuracy of diagnosis and relevance to equine practice.

*Short Communications* are intended to provide quick publication of highly relevant and interesting information. Manuscripts should contain original data and be limited to 2000 words. The number of tables and figures are limited to two each. A limited number of references should be included. Manuscripts will be peer reviewed by two reviewers and the Editor.

*Clinical Techniques* should describe a procedure or technique that must include 1) an overview and a description of the procedure; 2) a detailed series of images and descriptive text describing each step of the procedure; 3) a detailed description of the instruments and other materials needed to perform the procedure as well as trade name, manufacturer's name and address; 4) a summary or conclusion; and 5) references. Additional information acceptable for this section would include topics of current interest to our colleagues whether it is a technique or subject that

can be used in the clinical situation. "New drug regimens for use in the horse" is one example of such a clinical topic that has direct application to the equine.

### **Page charges**

This journal has no page charges.

## **BEFORE YOU BEGIN**

### **Ethics in publishing**

For information on Ethics in Publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

### **Policy and ethics**

The work described in your article must have been carried out in accordance with *The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans* <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; *EU Directive 2010/63/EU for animal experiments* [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/legislation\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm); *Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals* <http://www.icmje.org>. This must be stated at an appropriate point in the article.

Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of *Journal of Equine Veterinary Science*.

### **Conflict of interest**

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

### **Submission declaration**

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

### **Contributors**

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

## Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

## Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

*Before the accepted manuscript is published in an online issue:* Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

*After the accepted manuscript is published in an online issue:* Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

## Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright> ). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

## Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the paper for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

### **Funding body agreements and policies**

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

### **Open Access**

This journal offers you the option of making your article freely available to all via the ScienceDirect platform. To prevent any conflict of interest, you can only make this choice after receiving notification that your article has been accepted for publication. The fee of \$3,000 excludes taxes and other potential author fees such as color charges. In some cases, institutions and funding bodies have entered into agreement with Elsevier to meet these fees on behalf of their authors. Details of these agreements are available at <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. Authors of accepted articles, who wish to take advantage of this option, should complete and submit the order form (available at <http://www.elsevier.com/locate/openaccessform.pdf>). Whatever access option you choose, you retain many rights as an author, including the right to post a revised personal version of your article on your own website. More information can be found here: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

### **Language and language services**

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://webshop.elsevier.com/languageservices> or our customer support site at <http://support.elsevier.com> for more information.

### **Submission**

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

### ***Submit your article***

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/jevs>.

## Referees

Please submit, as part of the covering letter with the manuscript, the names, full affiliation (department, institution, city and country) and email addresses of up to 5 potential Referees. Appropriate Referees should be knowledgeable about the subject but have no close connection with any of the authors. In addition, Referees should be from institutions other than (and preferably countries other than) those of any of the Authors. You may also suggest reviewers you do not want to review your manuscript, but please state your reasons for doing so. The Editors retain the right to choose reviewers as deemed appropriate. All submissions will be reviewed by at least two anonymous reviewers to evaluate them for originality, clear statement of a hypothesis, appropriate experimental design, completeness of methods, a logical and comprehensive discussion, and conclusions that are supported by data.

## PREPARATION

### Use of word-processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the word processor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your word processor.

### Article Structure

#### *Subdivision - numbered sections*

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1. (then 1.1.1., 1.1.2., ...), 1.2., etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to "the text". Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line, with one blank line above and below each heading.

#### *Introduction*

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results. In most cases, this section should not exceed approximately 2 double-spaced pages.

#### *Materials and methods*

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

#### *Results*

Results should be clear and concise, and should correspond to data collection as described in Materials and Methods.

### ***Discussion***

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

### ***Conclusions***

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

### ***Essential title page information***

***Title.*** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

***Author names and affiliations.*** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name, and, if available, the e-mail address of each author.

***Corresponding author.*** Clearly indicate who is willing to handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.

***Present/permanent address.*** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a "Present address" (or "Permanent address") may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### **Abstract**

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

### **Keywords**

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

## Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

## Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

## Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUB: Biochemical Nomenclature and Related Documents: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/> for further information.

## Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

## Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

### Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

## Artwork

### *Image manipulation*

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

## ***Electronic artwork***

### *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as 'graphics' or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

### *Formats*

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'. TIFF: Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi. TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi. TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required. If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is'.

### **Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

### ***Color Artwork***

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

### ***Figure captions***

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and

abbreviations used.

### ***Text graphics***

Present incidental graphics not suitable for mention as figures, plates or schemes at the end of the article and number them "Graphic 1", etc. Their precise position in the text can then be indicated. See further under Electronic artwork. If you are working with LaTeX and have such features embedded in the text, these can be left, but such embedding should not be done specifically for publishing purposes. Further, high-resolution graphics files must be provided separately.

### **Tables**

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

### **References**

#### ***Citation in text***

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either "Unpublished results" or "Personal communication" Citation of a reference as "in press" implies that the item has been accepted for publication.

#### ***Web references***

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

#### ***References in a special issue***

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

#### ***Reference style***

**Text:** Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given. Example: "...as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result..."

**List:** Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

#### ***Examples:***

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;163:51-9.

Reference to a book:

[2] Strunk Jr W, White EB. The elements of style. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. Introduction to the electronic age, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281-304.

Note shortened form for last page number. e.g., 51-9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (J Am Med Assoc 1997;277:927-34) (see also [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html))

### ***Journal abbreviations source***

Journal names should be abbreviated according to Index Medicus journal abbreviations:

<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>; List of serial title word abbreviations:  
<http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>; CAS (Chemical Abstracts Service):  
<http://www.cas.org/sent.html>.

### **Supplementary material**

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Files can be stored on diskette, ZIP-disk or CD (either MS-DOS or Macintosh).

### **Submission checklist**

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

#### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'

- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

## **AFTER ACCEPTANCE**

### **Use of the digital object identifier**

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information.

The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*):

doi:10.1016/j.physletb.2003.10.071

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are guaranteed never to change.

### **Proofs**

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from <http://get.adobe.com/reader>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately - please let us have all your corrections within 48 hours. It is important to ensure

that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

### **Offprints**

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

### **AUTHOR INQUIRIES**

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs (<http://www.elsevier.com/authorFAQ>) and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

*Updated January 2012*

## II - Normas do periódico Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

As Memórias do Instituto Oswaldo Cruz são uma revista multidisciplinar que publica pesquisas originais relativas aos campos da medicina tropical (incluindo patologia, epidemiologia de campo e estudos clínicos), parasitologia médica e veterinária (protozoologia, helmintologia, entomologia e malacologia) e microbiologia médica (virologia, bacteriologia e micologia). A revista aceita, especialmente, pesquisas básicas e aplicadas em bioquímica, imunologia, biologia molecular e celular, fisiologia, farmacologia e genética relacionada a essas áreas. Comunicações breves são também consideradas. Artigos de revisão só quando solicitados. A revista publica oito números regulares, constituindo um por ano. Ocasionalmente, trabalhos apresentados em simpósios ou congressos são publicados como suplementos.

Os artigos apresentados devem ser escritos preferencialmente em inglês. Quando neste idioma, para não causar atrasos na publicação sugerimos que sejam checados por alguém que tenha o inglês como primeira língua e que, preferencialmente, seja um cientista da área.

A submissão de um manuscrito às Memórias requer que este não tenha sido publicado anteriormente (exceto na forma de resumo) e que não esteja sendo considerado para publicação por outra revista. A veracidade das informações e das citações bibliográficas é de responsabilidade exclusiva dos autores.

Os manuscritos serão analisados por pelo menos dois pareceristas; a aprovação dos trabalhos será baseada no conteúdo científico e na apresentação.

**Somente serão aceitas submissões eletrônicas dos artigos, no seguinte endereço:**  
<http://submission.scielo.br/index.php/mioc/login>.

Por meio desse serviço você pode submeter o artigo e acompanhar o status do mesmo durante todo o processo editorial. Garantindo rapidez e segurança na submissão do seu manuscrito e agilizando o processo de avaliação.

**Artigos sobre desenvolvimento de Produtos Naturais devem satisfazer os seguintes requisitos.**

### **Número de Acesso GeneBank**

Informações sobre sequências genéticas relatadas no manuscrito, devem ter seu número de acesso GeneBank mencionadas no manuscrito.

**O manuscrito deverá ser preparado de acordo com as Orientações aos Autores.**

Ao encaminhar um manuscrito para a revista, os autores devem estar cientes de que, se aprovado para publicação, o copyright do artigo, incluindo os direitos de reprodução em todas as mídias e formatos, deverá ser concedido exclusivamente para as Memórias. A revista não recusará as solicitações legítimas dos autores para reproduzir seus trabalhos.

- No caso de ensaios clínicos a obrigatoriedade de informar o número do registro na Plataforma REBEC.
- Declaração de que os dados/resultados do manuscrito não são plágio e não foram publicados em qualquer outro meio previamente.

Para maiores informações sobre o formato e o estilo da revista, favor consultar um número recente da Revista ou entrar em contato com a Editoria Científica pelos telefones (+55-21-2562.1222), fax (+55-21-2562-1220), ou e-mail ([memorias@fiocruz.br](mailto:memorias@fiocruz.br) / [memorias@ioc.fiocruz.br](mailto:memorias@ioc.fiocruz.br))

### Orientações aos Autores

O manuscrito (incluindo tabelas e referências) deve ser preparado em um software para edição de textos, em espaço duplo, fonte 12, paginado. As margens devem ser de pelo menos 3 cm. As figuras deverão vir na extensão tiff, com resolução mínima de 300 dpi. Tabelas e legendas de figuras devem ser submetidos juntos em arquivo único. Somente figuras deverão ser encaminhadas como arquivo suplementar.

O manuscrito deve ser apresentado na seguinte ordem:

**Título resumido:** com até 40 caracteres (letras e espaços)

**Título:** com até 250 caracteres

**Autores:** sem títulos ou graduações

**Afiliação institucional:** endereço completo somente do autor correspondente

**Resumo:** com até 200 palavras (100 palavras no caso de comunicações breves). Deve enfatizar novos e importantes aspectos do estudo ou observações.

**Palavras-chave:** devem ser fornecidos de 3 a 6 termos, de acordo com a lista Medical Subject Headings (Mesh) do Index Medicus.

**Notas de rodapé:** indicando a fonte de financiamento e mudança de endereço

**Introdução:** deve determinar o propósito do estudo, oferecer um breve resumo (e não uma revisão de literatura) dos trabalhos anteriores relevantes, e especificar quais novos avanços foram alcançados através da pesquisa. A introdução não deve incluir dados ou conclusões do trabalho em referência.

**Materiais e Métodos:** deve oferecer, de forma breve e clara, informações suficientes para permitir que o estudo seja repetido por outros pesquisadores. Técnicas padronizadas bastam ser referenciadas.

**Ética:** ao descrever experimentos relacionados a temas humanos, indicar se os procedimentos seguidos estiveram de acordo com os padrões éticos do comitê responsável por experimentos humanos (institucional ou regional) e de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975, revisada em 1983. Ao relatar experimentos em animais, indicar se diretrizes de conselhos de pesquisa institucionais ou nacionais, ou qualquer lei nacional relativa aos cuidados e ao uso de animais de laboratório foram seguidas.

**Resultados:** devem oferecer uma descrição concisa das novas informações descobertas, com o mínimo julgamento pessoal. Não repetir no texto todos os dados contidos em tabelas e ilustrações.

**Discussão:** deve limitar-se ao significado de novas informações e relacionar as novas descobertas ao conhecimento existente. Somente as citações indispensáveis devem ser incluídas.

**Agradecimentos:** devem ser breves e concisos e se restringir ao absolutamente necessário.

**Referências:** devem ser precisas. Somente as citações que aparecem no texto devem ser referenciadas. Trabalhos não publicados, a não ser os já aceitos para publicação, não devem ser citados. Trabalhos aceitos para publicação devem ser citados como "in press"; nesse caso, uma carta de aceitação da revista deverá ser fornecida. Dados não publicados devem ser citados somente no texto como "unpublished observations"; nesse caso, uma carta com a permissão do autor deve ser fornecida. As referências ao final do manuscrito devem ser organizadas em ordem alfabética de acordo com o sobrenome do primeiro autor.

Os títulos de revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus. Consultar: <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>

• **No texto, usar o sobrenome do autor e a data:**

Lutz (1910) ou (Lutz 1910).

Com dois autores, a forma é:  
(Lutz & Neiva 1912) ou Lutz and Neiva (1912).

Quando há mais que dois autores, somente o primeiro é mencionado:  
Lutz et al. (1910) ou (Lutz et al. 1910).

• **Nas referências, usar os seguintes estilos:**

**Artigo de revista**

Chagas C, Villela E 1922. Forma cardíaca da tripanosomiase americana. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 14: 15-61.

**Livro ou Tese**

Forattini OP 1973. *Entomologia Médica. Psychodidae, Phlebotominae, Leishmaniose, Bartonelose*, Vol. IV, Edgard Blucher, São Paulo, 658 pp.

Morel CM 1983. *Genes and Antigens of Parasites. A Laboratory Manual*, 2nd ed., Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, xxii + 580 pp.

Mello-Silva CC 2005. *Controle alternativo e alterações fisiológicas em Biomphalaria glabrata (Say, 1818), hospedeiro intermediário de Schistosoma mansoni Sambom, 1907 pela ação do látex de Euphorbia splendens var. hislopii N.E.B (Euphorbiaceae)*, PhD Thesis, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 85 pp.

**Capítulo de livro**

Cruz OG 1911. The prophylaxis of malaria in central and southern Brasil. In R Ross, *The Prevention of Malaria*, John Murray, London, p. 390-398.

**Artigo de revista na Internet**

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory

role. Am J Nurs [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from:  
<http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

### **Monografia na Internet**

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer [monograph on the Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available from:  
<http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>.

### **Homepage/Web site**

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from:  
<http://www.cancer-pain.org/>.

### **Parte de uma homepage/Web site**

American Medical Association [homepage on the Internet]. Chicago: The Association; c1995-2002 [updated 2001 Aug 23; cited 2002 Aug 12]. AMA Office of Group Practice Liaison; [about 2 screens]. Available from:  
<http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

## **BASE DE DADOS NA INTERNET**

### **Acesso aberto:**

Who's Certified [database on the Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from:  
<http://www.abms.org/newsearch.asp>

### **Acesso fechado:**

Jablonski S. Online Multiple Congenital Anomaly/Mental Retardation (MCA/MR) Syndromes [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). c1999 [updated 2001 Nov 20; cited 2002 Aug 12]. Available from:  
[http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome\\_title.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome_title.html)

### **Parte de uma base de dados na Internet**

MeSH Browser [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2002 - [cited 2003 Jun 10]. Meta-analysis; unique ID: D015201; [about 3 p.]. Available from:  
<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> Files updated weekly. Updated June 15, 2005

- **Ilustrações:** figuras e tabelas devem ser compreensíveis sem a necessidade de referência ao texto.

- **Figuras:** as fotografias devem ser bem nítidas, com alto contraste, ampliadas em preto e branco em papel brilhante, se apresentadas lâminas, as figuras devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. As escalas devem ser indicadas por uma linha ou barra na figura, e referenciadas, se necessário, na legenda (por exemplo, bar = 1 mm etc.). Lâminas e gráficos devem ajustar-se tanto em uma coluna (8 cm) ou na largura completa (16.5 cm) da página, e devem ser menores que a página para permitir a inclusão da legenda. As letras e números nas figuras devem ter tamanho legível após a redução ou a impressão. Ilustrações coloridas somente podem ser aceitas se os autores assumirem os custos. Por outro lado, uma fotografia colorida ilustra a capa de cada fascículo de Memórias, e os autores são convidados a submeter para consideração da revista ilustrações com legendas de seus manuscritos que poderão vir a ilustrar a capa.

- **Tabelas:** devem complementar, e não duplicar, o texto. Elas devem ser numeradas em algarismos romanos. Um título breve e descritivo deve constar no alto de cada tabela, com quaisquer explicações ou notas de rodapé (identificadas com letras a, b, c etc.) colocadas abaixo.

• **Comunicações breves:** devem ser breves e diretas. Seu objetivo é comunicar com rapidez resultados ou técnicas particulares. As comunicações não devem ocupar mais do que três páginas impressas, incluindo figuras e/ou tabelas. Não devem conter referências em excesso. As referências devem ser citadas no final do texto, usando o mesmo formato para artigos originais. Um resumo breve e três palavras-chave devem ser apresentados.

• **Formato alternativo:** Os manuscritos podem ser submetidos seguindo os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" produzidos pelo International Committee of Medical Journal Editors, também conhecidos como Vancouver Style. Nesse caso, os autores devem seguir as diretrizes da quinta edição (Annals of Internal Medicine 1997; 126: 36-47, ou no website <http://www.acponline.org/journals/resource/unifreqr/htm>), sendo responsáveis por modificar o manuscrito onde diferir das instruções aqui apresentadas, se o manuscrito for aceito para publicação. Os autores também deverão seguir os Uniform Requirements para quaisquer outras diretrizes omitidas nestas instruções

Uma vez que um trabalho seja aceito para publicação, os autores devem enviar:

- uma declaração de **affidavit** fornecida pela produção editorial da revista, assinada por todos os autores. Autores de diferentes países ou instituições podem assinar em diferentes folhas que contenham a mesma declaração.
- uma declaração de **copyright** fornecida pela produção editorial da revista, assinada pelo autor responsável pela correspondência.
- **Taxas:** a revista não cobra taxas para publicação.
- **Provas:** serão enviadas provas tipográficas aos autores para a correção de erros de impressão. As provas devem retornar para a Produção Editorial na data estipulada. Outras mudanças no manuscrito original não serão aceitas nesta fase

## III - Licenças para uso de animais em pesquisa

LICENÇA Nº -  
0021/2012  
13393/2011-DoC

	<b>UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO</b> <b>PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO</b> <b>COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS</b>	
---	--	---

## SOLICITAÇÃO DE LICENÇA PARA USO DE ANIMAIS EM PESQUISA

## 1. IDENTIFICAÇÃO DO SOLICITANTE

NOME	José Wilton Pinheiro Junior
INSTITUIÇÃO DE ORIGEM	Universidade Federal Rural de Pernambuco
CARGO/FUNÇÃO	Prof. Adjunto I de Doenças Infecciosas (Bacterioses e Virose dos Animais Domésticos)
DEPARTAMENTO/UNIDADE ACADÊMICA	Unidade Acadêmica de Garanhuns
ENDEREÇO ELETRÔNICO E TELEFONE	<a href="mailto:jrwilton@uag.ufrpe.br">jrwilton@uag.ufrpe.br</a>

## 2. DADOS DA EQUIPE

NOME	FORMAÇÃO/QUALIFICAÇÃO	FUNÇÃO
José Wilton Pinheiro Junior	Médico Veterinário Doutor em Ciência Veterinária Professor Adjunto I	- Coordenação do projeto de pesquisa - Análise laboratorial - Elaboração de relatórios - Tabulação e Análise dos dados obtidos - Publicação do trabalho em periódico especializado
Ruy Brayner de Oliveira Filho	Médico Veterinário Especialista em Defesa Sanitária Animal Acadêmico da Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical	- Coleta das amostras - Processamento das amostras - Análise laboratorial - Elaboração de relatórios - Tabulação e Análise dos dados obtidos - Publicação do trabalho em periódico especializado

 **CEUA - UFRPE**  
Aprovado em  
02/04/2012  
Validade  
02/04/2014

## 3. DADOS GERAIS DO PROJETO

TÍTULO	Situação Epidemiológica da Brucelose Equídea na Microrregião Geográfica do Brejo Paraibano
ÁREA TEMÁTICA <sup>1</sup>	Medicina Veterinária Preventiva
FINANCIAMENTO	
DATA INÍCIO/TÉRMINO	Março/2011 – Dezembro/2012
LOCAL DE EXECUÇÃO	Propriedades rurais com equídeos do Brejo Paraibano – UFPB - UFRPE

<sup>1</sup>De acordo com o CNPq

 CEUA - UFRPE  
Aprovado em  
02/04/2012  
Validade  
02/04/2014

## 4. RESUMO DO PROJETO

O Estado da Paraíba, localizado na região Nordeste do Brasil, ocupa uma área geográfica de 56.469,466km<sup>2</sup>. O Estado tem 223 municípios, sendo João Pessoa sua capital. Limita-se ao Norte com o Estado do Rio Grande do Norte, ao Leste com o Oceano Atlântico, ao Oeste com o Estado do Ceará, e ao Sul com o Estado de Pernambuco. A microrregião do Brejo Paraibano está inserida na mesorregião do Agreste, e é composta por oito municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria (IBGE, 2010). O efetivo do rebanho equino do Estado da Paraíba é da ordem de 48.366 animais, do asinino de 45.427, e do muar de 22.328, totalizando 116.121 equídeos. Já a microrregião do Brejo possui 2.086 equinos, 1.248 asininos e 1.696 muares, totalizando 5.028 equídeos (IBGE, 2009). A brucelose é uma doença infecto-contagiosa crônica que pode acometer os equídeos. A brucelose equídea merece preocupação em virtude da debilidade orgânica que provoca nos animais, pelos prejuízos decorrentes da eutanásia dos equinos infectados, além de constituírem fonte de infecção para outras espécies domésticas, inclusive, para o homem. A real dimensão da Brucelose equídea nos rebanhos do Brejo Paraibano é desconhecida, o que dificulta avaliar o impacto econômico e na saúde pública. Por isto, se faz necessário conhecer a prevalência e distribuição dessa enfermidade. O objetivo deste projeto é caracterizar a situação epidemiológica da brucelose equídea na microrregião do Brejo Paraibano. Neste projeto de pesquisa, será estimada a prevalência de propriedades infectadas pela brucelose equídea e a de animais soropositivos por meio de um estudo amostral em dois estágios, dirigido, primordialmente, para detectar focos de brucelose. No primeiro estágio, foram selecionadas todas as propriedades com criação de dez ou mais equídeos (unidades primárias de amostragem), visto que são essas propriedades que realmente fazem parte da cadeia produtiva da equideocultura, totalizando 38 propriedades; no segundo, será sorteado, de forma aleatória, um número pré-estabelecido de equídeos (unidades secundárias de amostragem). Para compor a amostra do estudo da prevalência foi considerada uma prevalência de 50%, visto que não há dados sobre a ocorrência desta infecção nesta microrregião. Essa proporção maximiza o tamanho da amostra, garantindo a confiança mínima de 95% e erro estatístico de 10%. Este parâmetro fornece um tamanho da amostra a ser examinado de 528 equídeos. A amostra de cada propriedade foi calculada com o auxílio do programa Epi Info, versão 6. Também serão amostradas 20% das fêmeas bovídeas das propriedades selecionadas com idade superior a 24 meses, caso elas mantenham contato com os equídeos, na tentativa de caracterizar algum elo epidemiológico entre bovídeos e equídeos, e sustentar a hipótese de que realmente a fonte de infecção para os equídeos são os bovídeos. Serão coletadas amostras sanguíneas por punção da veia jugular com agulha descartável esterilizada em tubo com vácuo, previamente identificado. Os soros serão armazenados em microtubos de plástico e serão mantidos a - 20°C até a realização dos testes. O protocolo de testes será composto pela triagem com o teste do antígeno acidificado tamponado ou teste Rosa Bengala, seguida do teste confirmatório com 2-mercaptoetanol. Em cada propriedade amostrada, além da coleta de sangue para a sorologia, será também aplicado um questionário epidemiológico, elaborado para obter informações sobre o tipo de exploração e as práticas de manejo empregadas, de forma a permitir a realização do estudo de fatores de risco. Também será preenchida, em cada propriedade, uma lista de colheita de material, contendo a identificação de cada animal, além de observações individuais quando necessário. Em cada propriedade, serão obtidas as coordenadas geográficas, com o intuito de observar a distribuição espacial da enfermidade na microrregião do Brejo Paraibano. A partir das informações obtidas espera-se estimar a frequência da infecção nos rebanhos analisados, assim como obter informações epidemiológicas que poderão orientar as principais medidas sanitárias que devem ser adotadas nas propriedades da região, e que poderão ser utilizadas em propriedades de equídeos em todo o Estado. Com o conhecimento da enfermidade na região e de seus fatores de risco, pretende-se diminuir as perdas econômicas dos produtores com medicamentos, mão de obra, honorários veterinários e perda de animais, bem como alertar a população quanto ao risco que a Brucelose traz à saúde pública.

 **CEUA - UFRPE**  
**Aprovado em**  
**02/04/2012**  
**Validade**  
**02/04/2014**

5. JUSTIFICATIVA PARA A REALIZAÇÃO DO PROJETO (DESTACAR A RELEVANCIA DO PROJETO E CONTRIBUIÇÃO PARA O AVANÇO DO CONHECIMENTO ATUAL E/OU POTENCIAIS BENEFÍCIOS PARA A ESPÉCIE SOB ESTUDO E/OU ESPÉCIE HUMANA)

A escassez de literatura a respeito da enfermidade em equídeos dificulta o estabelecimento da prevalência, dos mecanismos de transmissão, bem como da relevância da co-habitação de espécies na ocorrência da doença, que permitiriam esclarecer a epidemiologia e o real impacto da enfermidade na espécie equina (RIBEIRO et al., 2003). A Brucelose equídea é uma enfermidade de grande importância, pois pode causar sérios danos aos equídeos da microrregião do Brejo Paraibano, além de que, esses animais podem funcionar como fonte de infecção de *Brucella abortus* para outras espécies criadas em conjunto, como bovinos. Por possuir caráter zoonótico, gera também preocupações no âmbito da saúde pública. Por isso se faz necessário conhecer a situação epidemiológica dessa infecção, para que se possa adotar as devidas medidas de controle e erradicação.

 CEUA - UFRPE  
Aprovado em  
02/04/2012  
Validade  
02/04/2014

## 6. INFORMAÇÕES SOBRE O (S) ANIMAL (IS) SUJEITO A EXPERIMENTAÇÃO

ESPÉCIE/NOME VULGAR	Equina, asinina, muar, bovina
IDADE	Bovina – acima de dois anos; as demais – idades variadas
SEXO	Bovina – fêmeas; as demais – ambos os sexos
ORIGEM <sup>1</sup>	Propriedades com criação de equídeos da microrregião do Brejo Paraibano

<sup>1</sup>Em caso de animal silvestre, anexar comprovante de licença do IBAMA, especificando método de captura, manipulação e soltura. Para as espécies domésticas, de produção ou companhia, anexar modelo de carta de consentimento do proprietário.

## 7. INFORMAÇÕES SOBRE O DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

TIPO DE DELINEAMENTO	Foram selecionadas todas as propriedades com criação de dez ou mais equídeos, totalizando 38 propriedades. Para compor a amostra do estudo da prevalência foi considerada uma prevalência de 50%, visto que não há dados sobre a ocorrência desta infecção nesta microrregião. Essa proporção maximiza o tamanho da amostra, garantindo a confiança mínima de 95% e erro estatístico de 10%. Este parâmetro fornece um tamanho da amostra a ser examinado de 528 equídeos. A amostra de cada propriedade foi calculada com o auxílio do programa Epi Info, versão 6.
NÚMERO DE ANIMAIS	O tamanho da amostra a ser examinado é de 528 equídeos.

## 8. INFORMAÇÕES SOBRE MANEJO DOS ANIMAIS EXPERIMENTAIS

TIPO E TAMANHO DA INSTALAÇÃO (GAIOLA, BAIA, TANQUE, ETC.)	Não se aplica
DENSIDADE POPULACIONAL POR ÁREA/VOLUME	Não se aplica
CLIMATIZAÇÃO (CASO SE APLIQUE)	Não se aplica
RENOVAÇÃO DO AR/ÁGUA (CASO SE APLIQUE)	Não se aplica
ALIMENTAÇÃO (TIPO, QUANTIDADE E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
ÁGUA (QUANTIDADE E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
HIGIENIZAÇÃO (TÉCNICA E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
COLETA E DESTINO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS E LÍQUIDOS	Não se aplica
OUTRAS INFORMAÇÕES	

 **CEUA - UFRPE**  
Aprovado em  
02/04/2012  
Validade  
02/04/2014

## 9. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL (PREENCHER UM QUADRO PARA CADA TIPO)

NOME DO PROCEDIMENTO	Coleta de amostras sanguíneas
REQUER INDUÇÃO DE PATOLOGIA OU LESÃO?	Não se aplica
GRAU DE SEVERIDADE <sup>1</sup>	Não se aplica
PROVOCA, INTENCIONALMENTE, ESTRESSE NO (S) ANIMAL (IS)?	Não se aplica
PROVOCA, INTENCIONALMENTE, DOR NO (S) ANIMAL (IS)?	Não se aplica
O (S) ANIMAL (IS) SERÁ (ÃO) IMOBILIZADO (S)? ESPECIFICAR (TIPO E TÉCNICA)	Não se aplica
SERÁ REALIZADO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO? ESPECIFICAR (TIPO, TÉCNICA E FREQUÊNCIA).	Não se aplica
USARÁ SEDAÇÃO/ANALGESIA/ANESTESIA? ESPECIFICAR (DROGA, DOSAGEM, VIA E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
QUAL O LOCAL ONDE SERÁ REALIZADO O PROCEDIMENTO CIRÚRGICO?	Não se aplica
INDIQUE O MÉDICO VETERINÁRIO RESPONSÁVEL <sup>2</sup> , INCLUSIVE CRMV, CASO SE APLIQUE	Não se aplica
USARÁ PROTOCOLO DE PREVENÇÃO DE DOR NO PÓS-CIRÚRGICO? ESPECIFICAR (DROGA, DOSAGEM, VIA E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
SERÁ REALIZADA EXPOSIÇÃO, INOCULAÇÃO <sup>3</sup> OU ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIA? ESPECIFICAR (TIPO, DOSAGEM, VIA E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
SERÁ REALIZADA EXTRAÇÃO DE FLUIDOS/TECIDOS? ESPECIFICAR (TIPO, MÉTODO DE COLHEITA, QUANTIDADE E FREQUÊNCIA)	<b>Soro sanguíneo</b> As amostras serão coletadas através de venopunção da jugular, após a antisepsia com solução de álcool iodado a 2%, será coletado aproximadamente 9 ml de sangue.
SERÁ REALIZADA EUTANÁSIA <sup>4</sup> /ABATE <sup>5</sup> DURANTE O EXPERIMENTO? ESPECIFICAR (NÚMERO DE ANIMAIS, TÉCNICA, DROGA, DOSAGEM, ETC)	Não se aplica

<sup>1</sup>Para classificação considerar o Guia de Preenchimento do protocolo CEUA-Fiocruz, disponível no link CEUA-UFRPE

<sup>2</sup>De acordo com a Lei 5.517 de 23 de outubro de 1968, Art. 5º, alínea "a".

<sup>3</sup>Em caso de inóculo infeccioso, indicar a classe de risco

<sup>4</sup>Considerar a Resolução nº 714 de junho de 2002 do CFMV (atualizada em 2008).

<sup>5</sup>Considerar técnica recomendada pela legislação vigente, de acordo com a espécie (MAPA Instrução Normativa Nº 3, de 17 de janeiro de 2000)

## 10. JUSTIFICATIVA PARA O ENVOLVIMENTO DE ESTRESSE E/OU DOR INTENCIONAL NO (S) ANIMAL (IS) EXPERIMENTAL (IS) - CASO SE APLIQUE

Não se aplica

 **CEUA - UFRPE**  
Aprovado em  
02/04/2012  
Validade  
02/04/2014

11. INFORMAÇÕES SOBRE O DESTINO DO (S) ANIMAL (IS) VIVO (S) OU MORTO (S), APOS O TERMINO DO EXPERIMENTO\*

Não se aplica

\*Inclusive reutilização do (s) animal (is). Neste caso, justificar.

12. INFORMAÇÕES SOBRE AS CONDIÇÕES DE BIOSSEGURIDADE E IMPACTO AMBIENTAL OFERECIDOS PELO EXPERIMENTO - CASO SE APLIQUE

Não se aplica

13. TERMO DE RESPONSABILIDADE:

Certifico que este projeto não é desnecessariamente duplicativo, tem mérito científico e que a equipe responsável/colaboradora é treinada para executar os procedimentos descritos nesse protocolo, estando todos cientes dos Princípios Éticos na Experimentação Animal constantes na legislação vigente e no Regimento Interno da CEUA-UFRPE e concordo plenamente com as suas exigências durante a execução desse experimento.

NOME: José Wilton Pinheiro Junior

DATA: 02/08/2011

ASSINATURA:  \_\_\_\_\_

ASSINATURA DO MÉDICO VETERINÁRIO RESPONSÁVEL (CASO SE APLIQUE):  \_\_\_\_\_

CRMV: 3247176

 **CEUA - UFRPE**  
Aprovado em  
02/04/2012  
Validade  
02/04/2014

 *Carlos Antônio Alves Pontes*  
Presidente  
CEUA - UFRPE

LICENÇA Nº-

036/2012

3320/2012 - A09



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



SOLICITAÇÃO DE LICENÇA PARA USO DE ANIMAIS EM PESQUISA

1. IDENTIFICAÇÃO DO SOLICITANTE

NOME	José Wilton Pinheiro Junior
INSTITUIÇÃO DE ORIGEM	Universidade Federal Rural de Pernambuco
CARGO/FUNÇÃO	Prof. Adjunto I de Doenças Infecciosas (Bacterioses e Víroses dos Animais Domésticos)
DEPARTAMENTO/UNIDADE ACADÊMICA	Unidade Acadêmica de Garanhuns
ENDEREÇO ELETRÔNICO E TELEFONE	jrilton@uag.ufrpe.br

2. DADOS DA EQUIPE

NOME	FORMAÇÃO/QUALIFICAÇÃO	FUNÇÃO
José Wilton Pinheiro Junior	Médico Veterinário Doutor em Ciência Veterinária Professor Adjunto I	- Coordenação do projeto de pesquisa - Análise laboratorial - Elaboração de relatórios - Tabulação e Análise dos dados obtidos - Publicação do trabalho em periódico especializado
Ruy Brayner de Oliveira Filho	Médico Veterinário Especialista em Defesa Sanitária Animal Acadêmico da Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical	- Coleta das amostras - Processamento das amostras - Análise laboratorial - Elaboração de relatórios - Tabulação e Análise dos dados obtidos - Publicação do trabalho em periódico especializado

CEUA - UFRPE  
Aprovado em  
25/09/2012  
Validade  
25/09/2014

## 3. DADOS GERAIS DO PROJETO

TÍTULO	Situação Epidemiológica da Brucelose, Leptospirose e Toxoplasmose em equídeos na Microrregião Geográfica do Brejo Paraibano
ÁREA TEMÁTICA <sup>1</sup>	Medicina Veterinária Preventiva
FINANCIAMENTO	
DATA INÍCIO/TÉRMINO	Março/2011 – Dezembro/2012
LOCAL DE EXECUÇÃO	Propriedades rurais com equídeos do Brejo Paraibano – UFPB - UFRPE

<sup>1</sup>De acordo com o CNPq

 CEUA - UFRPE  
Aprovado em  
25/09/2012  
Validade  
25/09/2014

## 4. RESUMO DO PROJETO

O Estado da Paraíba, localizado na região Nordeste do Brasil, ocupa uma área geográfica de 56.469,466km<sup>2</sup>. O Estado tem 223 municípios, sendo João Pessoa sua capital. Limita-se ao Norte com o Estado do Rio Grande do Norte, ao Leste com o Oceano Atlântico, ao Oeste com o Estado do Ceará, e ao Sul com o Estado de Pernambuco. A microrregião do Brejo Paraibano está inserida na mesorregião do Agreste, e é composta por oito municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria (IBGE, 2010). O efetivo do rebanho equino do Estado da Paraíba é da ordem de 48.366 animais, do asinino de 45.427, e do muar de 22.328, totalizando 116.121 equídeos. Já a microrregião do Brejo possui 2.086 equinos, 1.248 asininos e 1.696 muares, totalizando 5.028 equídeos (IBGE, 2009). A brucelose é uma doença infecto-contagiosa crônica que pode acometer os equídeos. A brucelose equídea merece preocupação em virtude da debilidade orgânica que provoca nos animais, pelos prejuízos decorrentes da eutanásia dos equinos infectados, além de constituírem fonte de infecção para outras espécies domésticas, inclusive, para o homem. Nos equídeos, a leptospirose se manifesta por uveíte recorrente, abortamentos e outros distúrbios reprodutivos. Evolui geralmente como doença aguda ou crônica, individual ou de grupo de animais, sendo que a maioria das infecções apresenta caráter inaparente. A infecção pelo *Toxoplasma gondii* em equinos geralmente é inaparente, sendo esta caracterizada pela manutenção de títulos de anticorpos e presença de cistos teciduais. A real dimensão da Brucelose, da Leptospirose e da Toxoplasmose em equídeos nos rebanhos do Brejo Paraibano é desconhecida, o que dificulta avaliar o impacto econômico e na saúde pública. Por isto, se faz necessário conhecer a prevalência e distribuição dessas enfermidades. O objetivo deste projeto é caracterizar a situação epidemiológica da brucelose, da leptospirose e da toxoplasmose em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano. Neste projeto de pesquisa, será estimada a prevalência de propriedades infectadas pela brucelose, pela leptospirose ou pela toxoplasmose em equídeos e a de animais soropositivos por meio de um estudo amostral em dois estágios, dirigido, primordialmente, para detectar focos de brucelose, leptospirose ou toxoplasmose. No primeiro estágio, foram selecionadas todas as propriedades com criação de dez ou mais equídeos (unidades primárias de amostragem), visto que são essas propriedades que realmente fazem parte da cadeia produtiva da equideocultura, totalizando 26 propriedades; no segundo, será sorteado, de forma aleatória, um número pré-estabelecido de equídeos (unidades secundárias de amostragem). Para compor a amostra do estudo da prevalência foi considerada uma prevalência de 50%, visto que não há dados sobre a ocorrência destas infecções nesta microrregião. Essa proporção maximiza o tamanho da amostra, garantindo a confiança mínima de 95% e erro estatístico de 10%. Este parâmetro fornece um tamanho da amostra a ser examinado de 368 equídeos. A amostra de cada propriedade foi calculada com o auxílio do programa Epi Info, versão 6. Serão coletadas amostras sanguíneas por punção da veia jugular com agulha descartável esterilizada em tubo com vácuo, previamente identificado. Os soros serão armazenados em microtubos de plástico e serão mantidos a - 20°C até a realização dos testes. O protocolo de testes para brucelose será composto pelo teste do antígeno acidificado tamponado ou teste Rosa Bengala, pelo teste do 2-mercaptoetanol, e pelo teste de Fixação de Complemento. O diagnóstico da leptospirose será realizado através da Soro-aglutinação microscópica. O diagnóstico da toxoplasmose será realizado através da Reação de Imunofluorescência Indireta. Em cada propriedade amostrada, além da coleta de sangue para a sorologia, serão também aplicados questionários epidemiológicos, elaborados para obter informações sobre o tipo de exploração e as práticas de manejo empregadas, de forma a permitir a realização do estudo de fatores de risco. Também será preenchida, em cada propriedade, uma lista de colheita de material, contendo a identificação de cada animal, além de observações individuais quando necessário. Em cada propriedade, serão obtidas as coordenadas geográficas, com o intuito de observar a distribuição espacial das enfermidades na microrregião do Brejo Paraibano. A partir das informações obtidas espera-se estimar a frequência das infecções nos rebanhos analisados, assim como obter informações epidemiológicas que poderão orientar as principais medidas sanitárias que devem ser adotadas nas propriedades da região, e que poderão ser utilizadas em propriedades de equídeos em todo o Estado. Com o conhecimento das enfermidades na região e de seus fatores de risco, pretende-se diminuir as perdas econômicas dos produtores com medicamentos, mão de obra, honorários veterinários e perda de animais, bem como alertar a população quanto ao risco que essas doenças trazem à saúde pública.

 CEUA - UFRPE  
Aprovado em  
25/09/2012  
Validade  
25/09/2014

5. JUSTIFICATIVA PARA A REALIZAÇÃO DO PROJETO (DESTACAR A RELEVÂNCIA DO PROJETO E CONTRIBUIÇÃO PARA O AVANÇO DO CONHECIMENTO ATUAL E/OU POTENCIAIS BENEFÍCIOS PARA A ESPÉCIE SOB ESTUDO E/OU ESPÉCIE HUMANA)

A Brucelose, a Leptospirose e a Toxoplasmose em equídeos são enfermidades de grande importância, pois podem causar sérios danos aos equídeos da microrregião do Brejo Paraibano, além de que, esses animais podem funcionar como fonte de infecção de *Brucella abortus*, de diferentes sorovares de *Leptospira interrogans*, ou de *Toxoplasma gondii* para outras espécies criadas em conjunto. Por possuírem caráter zoonótico, geram também preocupações no âmbito da saúde pública. Por isso se faz necessário conhecer a situação epidemiológica dessas infecções, para que se possa adotar as devidas medidas de controle e erradicação.



## 6. INFORMAÇÕES SOBRE O (S) ANIMAL (IS) SUJEITO À EXPERIMENTAÇÃO

ESPÉCIE/NOME VULGAR	Equina, asinina, muar
IDADE	Idades variadas
SEXO	Ambos os sexos
ORIGEM <sup>1</sup>	Propriedades com criação de equídeos da microrregião do Brejo Paraibano

<sup>1</sup>Em caso de animal silvestre, anexar comprovante de licença do IBAMA, especificando método de captura, manipulação e soltura. Para as espécies domésticas, de produção ou companhia, anexar modelo de carta de consentimento do proprietário.

## 7. INFORMAÇÕES SOBRE O DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

TIPO DE DELINEAMENTO	Foram selecionadas todas as propriedades com criação de dez ou mais equídeos, totalizando 26 propriedades. Para compor a amostra do estudo da prevalência foi considerada uma prevalência de 50%, visto que não há dados sobre a ocorrência destas infecções nesta microrregião. Essa proporção maximiza o tamanho da amostra, garantindo a confiança mínima de 95% e erro estatístico de 10%. Este parâmetro fornece um tamanho da amostra a ser examinado de 368 equídeos. A amostra de cada propriedade foi calculada com o auxílio do programa Epi Info, versão 6.
NÚMERO DE ANIMAIS	O tamanho da amostra a ser examinado é de 368 equídeos.

## 8. INFORMAÇÕES SOBRE MANEJO DOS ANIMAIS EXPERIMENTAIS

TIPO E TAMANHO DA INSTALAÇÃO (GAIOLA, BAIÁ, TANQUE, ETC.)	Não se aplica
DENSIDADE POPULACIONAL POR ÁREA/VOLUME	Não se aplica
CLIMATIZAÇÃO (CASO SE APLIQUE)	Não se aplica
RENOVAÇÃO DO AR/ÁGUA (CASO SE APLIQUE)	Não se aplica
ALIMENTAÇÃO (TIPO, QUANTIDADE E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
ÁGUA (QUANTIDADE E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
HIGIENIZAÇÃO (TÉCNICA E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
COLETA E DESTINO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS E LÍQUIDOS	Não se aplica
OUTRAS INFORMAÇÕES	

 **CEUA - UFRPE**  
Aprovado em  
25/09/2012  
Validade  
25/09/2014

## 9. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL (PREENCHER UM QUADRO PARA CADA TIPO)

NOME DO PROCEDIMENTO	Coleta de amostras sanguíneas
REQUER INDUÇÃO DE PATOLOGIA OU LESÃO?	Não se aplica
GRAU DE SEVERIDADE <sup>1</sup>	Não se aplica
PROVOCA, INTENCIONALMENTE, ESTRESSE NO (S) ANIMAL (IS)?	Não se aplica
PROVOCA, INTENCIONALMENTE, DOR NO (S) ANIMAL (IS)?	Não se aplica
O (S) ANIMAL (IS) SERÁ (ÃO) IMOBILIZADO (S)? ESPECIFICAR (TIPO E TÉCNICA)	Não se aplica
SERÁ REALIZADO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO? ESPECIFICAR (TIPO, TÉCNICA E FREQUÊNCIA).	Não se aplica
USARÁ SEDAÇÃO/ANALGESIA/ANESTESIA? ESPECIFICAR (DROGA, DOSAGEM, VIA E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
QUAL O LOCAL ONDE SERÁ REALIZADO O PROCEDIMENTO CIRÚRGICO?	Não se aplica
INDIQUE O MÉDICO VETERINÁRIO RESPONSÁVEL <sup>2</sup> , INCLUSIVE CRMV, CASO SE APLIQUE	Não se aplica
USARÁ PROTOCOLO DE PREVENÇÃO DE DOR NO PÓS-CIRÚRGICO? ESPECIFICAR (DROGA, DOSAGEM, VIA E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
SERÁ REALIZADA EXPOSIÇÃO, INOCULAÇÃO <sup>3</sup> OU ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIA? ESPECIFICAR (TIPO, DOSAGEM, VIA E FREQUÊNCIA)	Não se aplica
SERÁ REALIZADA EXTRAÇÃO DE FLUIDOS/TECIDOS? ESPECIFICAR (TIPO, MÉTODO DE COLHEITA, QUANTIDADE E FREQUÊNCIA)	<b>Soro sanguíneo</b> As amostras serão coletadas através de venopunção da jugular, após a antissepsia com solução de álcool iodado a 2%, será coletado aproximadamente nove ml de sangue.
SERÁ REALIZADA EUTANÁSIA <sup>4</sup> /ABATE <sup>5</sup> DURANTE O EXPERIMENTO? ESPECIFICAR (NÚMERO DE ANIMAIS, TÉCNICA, DROGA, DOSAGEM, ETC)	Não se aplica

<sup>1</sup>Para classificação considerar o Guia de Preenchimento do protocolo CEUA-Fiocruz, disponível no link CEUA-UFRPE

<sup>2</sup>De acordo com a Lei 5.517 de 23 de outubro de 1968, Art. 5º, alínea "a".

<sup>3</sup>Em caso de inóculo infeccioso, indicar a classe de risco

<sup>4</sup>Considerar a Resolução nº 714 de junho de 2002 do CFMV (atualizada em 2008).

<sup>5</sup>Considerar técnica recomendada pela legislação vigente, de acordo com a espécie (MAPA Instrução Normativa Nº 3, de 17 de janeiro de 2000)

## 10. JUSTIFICATIVA PARA O ENVOLVIMENTO DE ESTRESSE E/OU DOR INTENCIONAL NO (S) ANIMAL (IS) EXPERIMENTAL (IS) - CASO SE APLIQUE

Não se aplica

 CEUA - UFRPE  
Aprovado em  
25/09/2012  
Validade  
25/09/2014

11. INFORMAÇÕES SOBRE O DESTINO DO (S) ANIMAL (IS) VIVO (S) OU MORTO (S), APÓS O TÉRMINO DO EXPERIMENTO<sup>1</sup>

Não se aplica

<sup>1</sup>Inclusive reutilização do (s) animal (is). Neste caso, justificar.

12. INFORMAÇÕES SOBRE AS CONDIÇÕES DE BIOSSEGURIDADE E IMPACTO AMBIENTAL OFERECIDOS PELO EXPERIMENTO – CASO SE APLIQUE

Não se aplica

13. TERMO DE RESPONSABILIDADE:

Certifico que este projeto não é desnecessariamente duplicativo, tem mérito científico e que a equipe responsável/colaboradora é treinada para executar os procedimentos descritos nesse protocolo, estando todos cientes dos Princípios Éticos na Experimentação Animal constantes na legislação vigente e no Regimento Interno da CEUA-UFRPE e concordo plenamente com as suas exigências durante a execução desse experimento.

NOME: José Wilton Pinheiro Junior

DATA: 06/03/2012

ASSINATURA: 

ASSINATURA DO MÉDICO VETERINÁRIO RESPONSÁVEL (CASO SE APLIQUE): 

CRMV: 3247176

  
*Carlos Antônio Alves Pontes*  
Carlos Antônio Alves Pontes  
Presidente  
CEUA - UFRPE

 CEUA - UFRPE  
Aprovado em  
25/09/2012  
Validade  
25/09/2014