UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS PARA O VÍRUS DA ARTERITE EQÜINA EM CAVALOS CRIADOS NAS MESORREGIÕES MACRO METROPOLITANA PAULISTA E CAMPINAS

POLLYANA RENNÓ CAMPOS BRAGA

BOTUCATU-SP
ABRIL/2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS PARA O VÍRUS DA ARTERITE EQÜINA EM CAVALOS CRIADOS NAS MESORREGIÕES MACRO METROPOLITANA PAULISTA E CAMPINAS

POLLYANA RENNÓ CAMPOS BRAGA

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof.. Dr. Alexandre Secorun Borges
Co-Orientador: Prof. Dr. Márcio Garcia Ribeiro

BOTUCATU-SP
ABRIL/2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ***ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE***

Braga, Pollyana Rennó Campos.
Ocorrência de anticorpos para o vírus da arterite eqüina em cavalos criados nas mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas / Pollyana Rennó Campos Braga. – Botucatu, 2010

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2010.
Orientador: Alexandre Secorun Borges
Co-orientador: Márcio Garcia Ribeiro
Assunto CAPES: 50500007

1. Campinas (SP). 2. Imunoglobulinas. 3. Eqüino. 4. Cavalo.

Palavras chave: Anticorpos; Arterite viral eqüina; Brasil; Cavalo; Ocorrência.

Nome do autor: Pollyana Rennó Campos Braga

Título: OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS PARA O VÍRUS DA ARTERITE DOS EQÜINOS EM CAVALOS CRIADOS NAS MESORREGIÕES MACRO METROPOLITANA PAULISTA E CAMPINAS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Adjunto Alexandre Secorun Borges
Presidente e Orientadora
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ- UNESP - Botucatu

Prof. Livre Docente Wilson Roberto Fernandes
Membro Titular
Departamento: Clínica Médica - VCM
FMVZ- USP- São Paulo

Prof. Adjunto João Pessoa Araújo Júnior
Membro Titular
Departamento: Microbiologia e Imunologia
IB – UNESP – Botucatu

Profª Dr. Carla Bargi Belli
Membro Suplente
Departamento: Clínica Médica- VCM
FMVZ- USP- São Paulo

Prof. Ass. Dr. Roberto Calderon Gonçalves
Membro suplente
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Data da defesa: 27 de abril de 2010

“O valor das coisas não está no tempo em que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis”.

Fernando Pessoa

Dedico este trabalho aos meus pais Maria da Graça e Marcelo, ao meu marido Vítor e à minha irmã Audrey que são o meu alicerce e a grande razão da minha vida.....

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Marcelo e Maria da Graça pelo amor e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida.

À minha irmã Audrey pelo auxilio e orientação que por muitas vezes foram fundamentais para que este projeto chegasse ao fim.

Ao meu marido Vítor pelo amor, compreensão e incentivo nos momentos em que tive que me ausentar para a realização das atividades referentes ao Mestrado.

À toda minha família, especialmente aos meus sogros Carlos e Ine pelo apoio sempre concedido.

À Dra Maria do Carmo pelo imprescindível auxílio na condução experimental, sem ela a conclusão deste trabalho não estaria sendo possível. Muito obrigada.

Ao meu orientador Professor Alexandre que desde o início foi extremamente solícito e me aceitou como orientada desde o primeiro contato, pela oportunidade concedida e pela compreensão devido a minha ausência física na condução do mestrado.

Ao meu co-orientador Professor Márcio pela preciosa colaboração no decorrer do meu projeto.

Ao setor de pós-graduação pelo auxílio e compreensão.

Aos meus colegas veterinários pelo apoio na colheita das amostras em especial à Dra. Rose, Dra. Cláudia, Dr. Gerson, Dra. Leila e Dra. Juliana.

Aos meus colegas de trabalho Leonardo e Nilder pelo apoio e incentivo na concretização desta minha conquista.

A todos que se fizeram presentes e me ajudaram de alguma forma, porém não citados nestes agradecimentos, o meu muito obrigada.

LISTA DE QUADROS E TABELAS

TABELA 1 Número de eqüinos pertencentes às Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas, IBGE, 2005..... 29

TABELA 2 Número de propriedades, municípios, animais e média de animais por propreidade colhidos nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas, para o diagnóstico sorológico da arterite viral eqüina..... 30
...

TABELA 3 Estudos de soroprevalência de anticorpos contra o vírus da Arterite equina em cavalos criados em diferentes estados do Brasil, utilizando a técnica de soroneutralização..... 37
.

TABELA 4 Estudos de soroprevalência de anticorpos contra o vírus da Arterite equina em diferentes países..... 38
.

TABELA 5 Porcentagem de animais reagentes para a Arterite eqüina pela técnica de soroneutralização segundo sua distribuição por Mesorregiões Geográficas. Botucatu, 2010..... 39
.

TABELA 6 Ocorrência de animais reagentes ao vírus da Arterite eqüina pela técnica de soroneutralização agrupados segundo a sua localização geográfia..... 41

TABELA 7 Ocorrência de animais positivos para o vírus da Arterite eqüina criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas agrupados segundo sexo. Botucatu, SP, 2010..... 45
.

TABELA 8 Distribuição da freqüência de títulos de anticorpos para o vírus da Arterite eqüina em soros sangüíneos de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas, agrupados segundo o sexo. Botucatu, SP, 2010..... 45
.

TABELA 9 Ocorrência da Arterite Viral Eqüina, determinada pela da reação de soroneutralização, em soro sangüíneo de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana

Paulista e de Campinas, agrupados segundo a raça. Botucatu, SP, 2010..... 46

TABELA 10 Distribuição da freqüência de títulos de anticorpos para o vírus da arterite eqüina em soros de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas, Botucatu, SP, 2010..... 49

TABELA 11 Ocorrência da infecção pelo vírus da arterite dos eqüinos, detectada através da reação de soroneutralização, em soros sagüíneos de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas, agrupados segundo a faixa etária. Botucatu, SP, 2010..... 50

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

FIGURA 1 Mapa do estado de São Paulo representando os municípios amostrados..... 28

FIGURA 2 Colheita de sangue por punção da veia jugular em eqüino. Campinas, 2008..... 32

FIGURA 3 Cultura celular da Linhagem RK-13 para diagnóstico da Arterite viral dos eqüinos (A). Preparação de microplacas para titulação do vírus(B)..... 33

FIGURA 4 Câmara de fluxo contínuo onde foram preparadas as microplacas para o teste de soroneutralização para o diagnóstico da Arterite viral dos equinos (A). Microplaca preparada contendo a mistura soro-vírus-células após a última incubação e antes da realização da leitura dos resultados 35

FIGURA 5 Orifício da microplaca de teste de soroneutralização sem a presença do efeito citopático do vírus da Arterite dos eqüinos em células RK-13 (A). Orifício da microplaca de teste de soroneutralização evidenciando o efeito citopático em células RK-13 (B)..... 35

FIGURA 6 Mapa do estado de São Paulo representando os municípios amostrados no estudo e classificados segundo a presença e ausência de animais soropositivos para o vírus da arterite dos eqüinos pela técnica de soroneutralização..... 42

GRÁFICO 1 Distribuição da freqüência de animais reagentes e não reagentes para o vírus da Arterite dos eqüinos na prova de soroneutralização em cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas. Botucatu, SP, 2010..... 36

ANEXO 1 Distribuição da freqüência de títulos de anticorpos anti vírus da Arterite eqüina em soros sangüíneos de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas agrupados segundo a sua localização

geográfica..... 61

ANEXO 2 Distribuição da freqüência de títulos de anticorpos anti Vírus da Arterite dos Eqüinos, em soro sangüíneo de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas, agrupados segundo a faixa etária. Botucatu, SP, 2010..... 62

ANEXO 3 Número de propriedades coletadas por cidade, número de animais coletados por cidade e número de propriedades por cidade com animais positivos para o vírus da Arterite eqüina..... 63

ANEXO 4 Análise das propriedades positivas para o vírus da Arterite eqüina com relação à raça predominante na criação, localização geográfica, número de animais positivos por propriedade e número de animais coletados por propriedade..... 64

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

% – por cento

Kb – kilobases

ORFS – open reading frames

RNA – ácido ribonucleico

PSI – Puro Sangue Inglês

VAE – virus da arterite dos eqüinos

AIE – anemia infecciosa equina

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ensaio imunoenzimático)

et al. – e colaboradores

EUA – Estados Unidos da América

FMVZ – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

HIV - Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)

mL – mililitro

µL – microlitro

mm – milímetro

OIE – Office International des Epizooties (Organização Mundial de Sanidade Animal)

Nº– número

PI – pós infecção

PCR – Reação em Cadeia pela Polimerase

RT-PCR– Reação em Cadeia da Polimerase com transcriptase reversa

EUA – Estados Unidos da América

ºC: graus Celsius

$DICT_{50}$ – 50% tissue culture infective doses

NAHMS: National Animal Health Monitoring System

UNESP – Universidade Estadual Paulista

SUMÁRIO

RESUMO..... 01

ABSTRACT..... 02

1 INTRODUÇÃO..... 03

2 REVISÂO DE LITERATURA..... 04

2.1 Etiologia e Propriedades Gerais..... 04

2.2 Epidemiologia..... 06

2.3 Imunidade..... 13

2.4 Patogenia 15

2.5 Manifestações Clínicas..... 16

2.6 Diagnóstico..... 18

2.7 Prevenção e Controle..... 21

3. OBJETIVOS..... 27

4. MATERIAL E MÉTODOS..... 28

4.1 Propriedades..... 28

4.2 Constituição dos Grupos Experimentais..... 30

4.3 Cálculo do tamanho amostral..... 31

4.4 Colheita de Material..... 31

4.5 Detecção de Anticorpos Soroneutralizantes..... 32

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 36

5.1 Avaliação dos resultados segundo localização geográfica..... 39

5.2 Avaliação dos resultados segundo sexo..... 44

5.3 Avaliação dos resultados segundo raça..... 46

5.4 Avaliação dos resultados segundo faixa etária..... 49

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS 52

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 54

Anexos..... 61

Trabalho Científico..... 65

RESUMO

BRAGA, P.R.C. **Ocorrência de anticorpos para o vírus da arterite eqüina em cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas**. Botucatu, 2010, 68p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

O presente estudo investigou a ocorrência de anticorpos contra o vírus da arterite eqüina, utilizando a técnica de soroneutralização viral em 1.400 eqüinos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas, pertencentes a 42 municípios do estado de São Paulo (SP), Brasil entre os meses de janeiro de 2007 a dezembro de 2008. Do total das amostras, 80 (5,71%) apresentaram anticorpos para o vírus (títulos entre 4 e 4096). Dentre os 42 municípios amostrados, 15 (35,7%) apresentaram pelo menos um animal sororeagente. Foram analisadas 238 propriedades das quais 41 apresentaram ao menos um animal sororeagente. A ocorrência de animais reagentes foi maior em cavalos destinados ao esporte, particularmente das raças de Salto e Quarto de Milha e foi semelhante entre machos e fêmeas. A ocorrência também foi maior em animais acima de 24 meses de idade. Os resultados obtidos sugerem a circulação do vírus nos criatórios amostrados e alertam para o impacto econômico- sanitário da doença para a eqüideocultura do estado de São Paulo.

Palavras-chave: ocorrência, arterite viral eqüina, anticorpos, cavalo, Brasil

ABSTRACT

This study investigate the occurence of arteritis virus antibodies using virus neutralization teste in 1,400 equines from Campinas and Macro Metropolitan Paulista Mesoregions which belong to the 42 cities located on State of Sao Paulo, Brazil between january of 2007 until december of 2008. All the samples, 80 (5.71%) showed antibodies to equine arteritis virus (titers ranging from 4 to 4096). Among the 42 cities, 15 (35.7%) presented at least one positive animal to equine arteritis virus. Were studied 238 farms, and from these 41 showed at least one soropositive animal. The prevalence was higher in sport horses like Jumping Horses**,** Quarter Horses and was similar between females and males. The seropositive ocurrence was higher in animals above 24 months of age. These results suggest the circulation of virus among horse population in farms sampled and alert to sanitary and economical importance of this disease for the Sao Paulo State equine husbandry.

Key words: ocurrence, equine arteritis virus, antibodies, horse, Brazil

1. INTRODUÇÃO

A arterite viral eqüina é uma doença de notificação obrigatória constante na lista da Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE). O vírus da arterite foi identificado pela primeira vez em 1953 durante severo surto de doença respiratória e abortiva em haras próximo à cidade de Bucyrus, no estado americano de Ohio (ZHANG et al., 2008). A doença somente despertou preocupação na Medicina Veterinária e no mercado eqüestre internacional a partir da epidemia em cavalos da raça Puro Sangue Inglês de Kentucky, em 1984 (TIMONEY e McCOLLUM, 1997). Desde então, vários surtos da doença foram relatados na América do Norte e Europa. Recentemente, a arterite viral foi identificada em eqüinos na Austrália, Nova Zelândia e África do Sul, países reconhecidos anteriormente como livres da doença (BALASURIYA e MACLACHLAN, 2007).

No Brasil estudos conduzidos nos estados de São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Minas Gerais, revelaram a circulação do vírus na população de eqüinos dessas regiões (LARA et al., 2002; LARA et al., 2003; DIEL et al., 2006; BELLO et al., 2007) mas, até o momento, o vírus não foi isolado em nosso país sendo a doença considerada exótica no Brasil. A falta de conhecimento da doença pelos veterinários atuantes à campo somada ao envio escasso de materiais para diagnóstico aos laboratórios de referência, podem ser fatores que influenciem os resultados obtidos para a doença até o momento em nosso país.

A distribuição mundial e o aumento nos índices de ocorrência da doença são reflexos do intenso movimento internacional de cavalos para eventos, competições e reprodução (MURPHY et al., 1992). Os mais recentes surtos de arterite viral eqüina ocorridos em cavalos de esporte na Argentina ressaltam a importância dessa enfermidade, confirmam a presença do vírus na América do Sul e evidenciam o risco de transmissão do vírus para a população de eqüinos do Brasil, uma vez que o trânsito de animais, principalmente dos estados do sul do país bem como do estado de São Paulo para a Argentina é intenso (OIE, 2010).

Medidas zoosanitárias específicas para a arterite viral eqüina foram adotadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil no ano de 2008,

mas principalmente no que se refere aos requisitos para a importação temporária de eqüinos com retorno à origem, essas medidas ainda favorecem a introdução do vírus em nosso país.

Tendo a arterite viral eqüina grande importância no mercado eqüestre internacional e o número reduzido de estudos realizados em nosso país, estudos adicionais são necessários a fim de se incentivar e conscientizar os médicos veterinários atuantes no mercado nacional sobre o impacto da doença através do aumento do diagnóstico da mesma em nosso país.

O nosso trabalho avaliou eqüinos pertencentes à duas Mesorregiões Paulistas importantes no mercado eqüestre nacional a fim de se verificar a presença de anticorpos contra o vírus da arterite eqüina pelo teste de soroneutralização.

Os resultados obtidos evidenciam a circulação do vírus da arterite eqüina na população amostrada, alertam sobre a importância da doença na eqüideocultura do estado de São Paulo e reforçam a necessidade de medidas específicas adicionais no controle da doença.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ETIOLOGIA E PROPRIEDADES GERAIS

A partir da década de 1990, o vírus da arterite foi classificado como pertencente à ordem *Nidovirales*, família *Arteriviridae*, gênero *Arterivirus.* Neste mesmo gênero também estão inclusos as seguintes espécies de vírus: vírus da síndrome respiratória e reprodutiva dos suínos, o vírus da febre hemorrágica dos símios e o vírus elevador da lactato desidrogenase (SNIJDER e MEULENBERG, 1998; FLORES, 2007).

A arterite em eqüinos é causada por RNA vírus envelopado, pequeno, esférico, medindo de 50 a 70 nm, de fita única, com polaridade positiva e 12,7 kb (DEL PIERO, 2000). O RNA viral possui nove ORFS (open reading frames). As ORFs 1a e 1b localizam-se na extremidade 5' do genoma e são responsáveis pela produção de duas proteínas não-estruturais de replicação (WOOD et al., 2007).

A estrutura do vírus possui seis proteínas do envelope (E, GP2b [GS], GP3, GP4, GP5 [GL]e M) e a proteína do nucleocapsídeo (N) que são codificadas, respectivamente, pelas ORFs 2a , 2b, 3, 4, 5, 6 e 7 localizadas na porção 3' do genoma viral pela tradução de grupo específico de RNA mensageiros subgenômicos (BALASURIYA et al., 1997; LARSKA e ROLA, 2008).

As maiores variações nas seqüências de codificação de proteínas ocorrem nas ORF3 e ORF5. A diversidade genética na seqüência da ORF5 é comumente utilizada nas análises filogenéticas do vírus (BALASURIYA et al., 1997). A proteína GP5 é responsável pela expressão da maioria dos determinantes de neutralização do vírus da arterite. Somente um sorotipo viral, denominado Bucyrus, foi identificado até o momento e as cepas isoladas a campo em regiões geograficamente distintas diferem na severidade dos sinais clínicos e no potencial de causar abortamentos (GLASER et al., 1997; LARSKA e ROLA, 2008).

O elevado nível de conservação genômica entre os isolados do vírus de diferentes origens geográficas pode refletir a disseminação viral, associado ao movimento internacional de cavalos (MURPHY et al., 1992). A análise filogenética das cepas isoladas a campo é fundamental na determinação da origem da infecção pelo vírus da arterite (LARSKA e ROLA, 2008).

O vírus é pouco resistente no ambiente, mostrando sensibilidade à luz solar direta, altas temperaturas, baixa umidade e desinfetantes comuns, como amônia quaternária, formalina, permanganato de potássio e hipoclorito de sódio, ou solventes lipídicos como éter e clorofórmio (DEL PIERO, 2006). No entanto, pode mostrar-se viável por anos a baixas temperaturas e também por vários meses no sêmen congelado (TIMONEY e McCOLLUM, 1997; LU e MORRESEY, 2007).

O vírus não se replica em ovos embrionados, não se propaga em animais de laboratório e não causa hemaglutinação. As partículas virais possuem antígenos fixadores de complemento e neutralizantes, mas são desprovidas de hemaglutininas (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2004). Podem ser atenuadas por passagens seriadas em culturas de tecidos e induzem forte imunidade em eqüinos

vacinados (SNIJDER e MEULENBERG, 1998).

A infecção natural se restringe aos membros da família Equidae (eqüinos, mulas e burros), não sendo transmitido aos humanos (DEL PIERO, 2000; RADOSTITS et al., 2007).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

Vários inquéritos sorológicos têm demonstrado a presença da infecção em eqüinos de várias regiões do mundo, incluindo América do Norte e do Sul, Europa, Austrália, África e Ásia, com prevalência bastante variada (HOLYOAK et al., 2008). Islândia e Japão são aparentemente livres do vírus. Contudo, a infecção pelo vírus da arterite é relativamente comum em eqüinos de países europeus (BELL et al., 2006; HOLYOAK et al., 2008).

A soroprevalência da doença foi estimada em 11,3% na Suíça e 18,5% na França (BELL et al., 2006). Estudo na Holanda entre 1963 e 1975 revelou aproximadamente 14% de eqüinos soropositivos (DE BOER et al., 1979). Na Alemanha, 1,8% dos eqüinos foram positivos em 1987, revelando aumento da ocorrência para 20% em estudo posterior em 1994 (EICHHORN et al., 1995). Na Polônia, 24% dos garanhões testados foram positivos para a doença, cuja ocorrência reduziu para 17,4% após a implementação de medidas sanitárias específicas (LARSKA e ROLA, 2008). Na Polônia estudo conduzido por Golnik et al. (2008) em animais da raça Puro Sangue Inglês verificou 27% de prevalência da doença. No estado americano da Califórnia, cavalos residentes não vacinados mostraram soroprevalência de 1,9%, enquanto cavalos importados revelaram 18,6% de animais reagentes (HULLIGAN et al., 2001; BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007).

Na Argentina estudo realizado em 1984 revelou 9,6% de soroprevalência da doença (NOSETTO et al., 1984). Entre os anos de 2001 e 2002 foi realizado estudo de soroprevalência em 1.774 garanhões registrados no país, dos quais 14 foram considerados positivos. Contudo, o primeiro isolamento do vírus da arterite em garanhão soropositivo foi realizado em 2001 (ECHEVERRIA et al., 2003;

ECHEVERRÍA et al., 2007). Em 2010, oito surtos foram notificados na Argentina com um total de 196 casos confirmados pelos testes de RT-PCR, soroneutralização e isolamento viral. A maioria dos surtos ocorreu em propriedades criadoras de animais de esporte, onde fêmeas foram inseminadas com sêmen infectado (OIE, 2010).

Durante o verão de 2006 foi identificado surto da doença no estado do Novo México e em outros cinco estados dos EUA em animais da raça Quarto de Milha, após a utilização de sêmen congelado infectado. Em 2007, a doença ocorreu em haras na região da Normandia na França também relacionada à utilização de sêmen congelado infectado (HOLYOAK et al., 2008).

A prevalência da doença varia não somente entre os países, mas também entre animais de diferentes raças e idades, o que pode ser evidenciado entre animais da raça Standardbred, conhecido no Brasil como American Troter, e os da raça Puro Sangue Inglês. Neste aspecto, tanto em países europeus como nos EUA, a infecção é endêmica entre os animais da raça Standardbred, mas não entre os animais da raça Puro Sangue Inglês (WOOD et al., 2007; HOLYOAK et al., 2008).

Embora as diferenças na susceptibilidade à infecção pelo vírus entre as raças possam apresentar origem genética, até o momento não foi demonstrada nenhuma variação raça-específica na susceptibilidade à infecção, ou mesmo no estabelecimento de machos portadores (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007).

A ocorrência da infecção aumenta com a idade, indicando que os cavalos podem ser repetidamente expostos ao vírus com o passar dos anos. Evidências apontam que a prevalência dos títulos de anticorpos é maior em fêmeas e em cavalos utilizados para reprodução (RADOSTITS, et al., 2007).

O estado de São Paulo possui o maior rebanho eqüino de raças puras do país, estes animais estão em constante trânsito dentro do próprio estado, bem como entre diferentes estados e países, participando de competições eqüestres, feiras e exposições. O estado possui enorme população de animais importados cuja ocorrência de infecção pelo vírus da arterite eqüina é desconhecida e,

também, é uma das regiões do país que mais utiliza tecnologia em reprodução, com importação de animais, sêmen e transferência de embriões.

No Brasil, são pontuais os estudos conduzidos na investigação da arterite viral equina. O primeiro registro da doença ocorreu em 1993 na cidade de Ibiúna, estado de São Paulo, em propriedade que criava animais da raça Mangalarga Paulista. O teste de soroneutralização em amostras pareadas confirmou a presença de animais reagentes para o vírus da arterite nos eqüinos da propriedade (BELLO et al., 2007).

LARA et al., (2002) investigaram a prevalência de anticorpos contra o vírus da arterite em 659 amostras de soros sangüíneos de eqüídeos criados no estado de São Paulo, utilizando o teste de soroneutralização em microplacas, e observaram prevalência de 18,2%. A raça Mangalarga foi a que apresentou maior ocorrência (33,3%). A prevalência também foi maior em animais entre 6 a 24 meses de idade e a freqüência de anticorpos para o vírus foi maior nas fêmeas (30,4%), comparativamente aos machos (22,9%).

RICHTZENHAIN et al. (2002) avaliaram a presença de anticorpos para anemia infecciosa eqüina (AIE), arterite viral (VAE) e herpesvírus tipo 1 em 96 eqüinos provenientes de 32 propriedades rurais do tipo familiar do município de Uruará, Pará. O diagnóstico de AIE foi realizado pela prova de imunodifusão em gel de ágar e para arterite e herpesvírus por soroneutralização. Foram observadas, 17,71% de animais sororeagentes tanto para AIE quanto para Herpesvírus e nenhum animal positivo para arterite viral eqüina.

LARA et al. (2003) analisaram 70 amostras de soro sangüíneo de cavalos da raça Puro Sangue Inglês criados na região metropolitana de Curitiba, utilizando a prova padrão de soroneutralização em microplacas para a pesquisa de anticorpos contra a arterite viral e herpesvírus. Das amostras analisadas, duas (2,9%) foram reagentes para arterite viral eqüina e dez (14,3%) para herpesvírus eqüino tipo 1.

Amostras de soros provenientes de eqüinos de 65 municípios do estado do Rio Grande do Sul foram submetidas à técnica de soroneutralização para detecção do vírus da arterite eqüina. Das 1.506 amostras, 33 (2,2%) mostraram-se

reagentes para o vírus. Dentre os 65 municípios amostrados, 15 (23%) apresentaram pelo menos um animal positivo. A ocorrência de animais reagentes não variou significativamente entre os animais de diferentes categorias, e entre machos e fêmeas. Este achado indica que os diferentes sistemas de criação apresentaram condições epidemiológicas semelhantes em relação às infecções (DIEL et al., 2006).

LARA et al. (2006) analisaram 97 amostras sangüíneas de cavalos de carroceiros pertencentes à cidade de Curitiba e região metropolitana utilizando o teste de soroneutralização e não encontraram nenhum animal positivo para o vírus da arterite eqüina.

BELLO et al. (2007) verificaram a freqüência e distribuição de eqüídeos soropositivos para arterite viral eqüina em dez Delegacias Regionais do Instituto Mineiro de Agropecuária, no estado de Minas Gerais, utilizando a técnica de soroneutralização. O percentual médio foi de 0,85% (7/826) sendo assim distribuído: Delegacias Regionais de Almenara (0,77%), Montes Claros (1,09%), Oliveira (2,12%), São Gonçalo do Sapucaí (2,22%), Teófilo Otoni (1,36%) e Viçosa (1,72%) o que reforça a presença da doença em eqüinos em diferentes regiões de Minas Gerais.

AGUIAR et al. (2008) analisaram 176 eqüídeos pertencentes ao município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira frente a agentes bacterianos e virais e não encontram nenhum animal positivo para a arterite viral eqüina.

CUNHA et al. (2009) estudaram a soroprevalência de anticorpos contra agentes virais em 163 eqüideos (143 eqüinos e 20 muares) provenientes de 16 municípios do sul do estado de São Paulo, parte no Vale da Ribeira e parte no litoral e não encontraram nenhum animal positivo para o vírus da arterite eqüina.

Nas últimas décadas, surtos da arterite equina eram identificados com pouca freqüência. Contudo, com o aumento do trânsito internacional de equinos tanto para competições e reprodução, bem como a utilização de sêmen em larga escala nas inseminações artificiais, o risco de disseminação do vírus aumentou substancialmente (GLASER et al., 1997). Surtos recentes foram identificados na

América do Norte, Reino Unido, Espanha, Itália, França, Polônia, Holanda, África do Sul e Alemanha (RADOSTITS et al., 2007) e neste ano na Argentina (OIE, 2010). Em alguns países onde o trânsito de eqüinos para realização de provas hípicas é intenso, a prevalência da arterite viral dos eqüinos é elevada. No Brasil, até o momento, nenhum surto da doença ou isolamento viral foi registrado.

Eqüinos de todas as idades são susceptíveis à infecção. A doença se dissemina rapidamente em grupos de animais susceptíveis e, embora o curso clínico seja curto os surtos podem persistir por semanas. A infecção natural em potros recém-nascidos pode ocorrer sob a forma de surtos ou casos isolados (RADOSTITS et al., 2007).

Como muitos casos da infecção são assintomáticos, a ausência de evidência clínica não significa ausência de vírus circulante nos plantéis. Fatores relacionados ao hospedeiro, ao ambiente e ao próprio vírus são determinantes na epidemiologia da doença. Dentre estes fatores destacam-se: a variação de patogenicidade das cepas isoladas a campo, as vias de transmissão, a persistência de animais portadores e o estado imune do hospedeiro (TIMONEY e McCOLLUM, 1997).

2.2.1 TRANSMISSÃO

As duas mais importantes formas de transmissão da arterite viral eqüina ocorrem pela via respiratória, mediante secreções respiratórias provenientes de animais agudamente infectados, e pela via venérea, após o contato de fêmeas com machos portadores (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007; FLORES, 2007; WOOD et al., 2007).

A transmissão pela via respiratória é freqüente em locais com elevado número de animais. Ocorre igualmente por aerossóis provenientes de secreções respiratórias de animais agudamente infectados e, também a partir da urina, fezes, secreções vaginais, fetos abortados, membranas placentárias e secreções de garanhões agudamente ou cronicamente infectados (HOLYOAK et al., 2008). As concentrações virais permanecem altas nas secreções respiratórias por 7 a 14 dias durante a fase aguda da doença. A transmissão do vírus por aerossóis foi

comprovada tanto em infecções naturais quanto experimentais. Sugere-se que a via respiratória seja a rota primária da disseminação do vírus durante surtos e epidemias da doença (BELL et al., 2006; RADOSTITS et al., 2007).

Nos machos o vírus é mantido nos órgãos sexuais acessórios, principalmente na ampola dos ductos deferentes e é eliminado constantemente pelo sêmen. A transmissão venérea por machos portadores, agudamente ou cronicamente infectados, é a forma pela qual o vírus se mantém nos criatórios (GLASER et al., 1997; WOOD et al., 2007). O vírus é viável tanto no sêmen fresco quanto no congelado (TIMONEY e McCOLLUM, 1997). Os machos portadores disseminam o vírus apenas pela via venérea e podem transmitir a infecção para 85 a 100% das fêmeas soronegativas com as quais se reproduzem, secundária à inseminação artificial ou monta natural. Estas fêmeas soroconvertem 28 dias após o contato com o macho portador (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007).

As fêmeas infectadas por via venérea desenvolvem infecção aguda e disseminam o vírus horizontalmente por secreções nasais à animais susceptíveis. Nas fêmeas gestantes infectadas, pode ocorrer abortamento ou mortalidade neonatal. Fêmeas infectadas no terço final de gestação podem transmitir o vírus para o feto por via transplacentária (GLASER et al., 1997). O vírus não é teratogênico, mas o potro infectado congenitamente pode desenvolver uma rápida, progressiva e fulminante pneumonia intersticial e enterite fibronecrótica. A placenta, os fluídos fetais e o feto são fontes abundantes de vírus (WOOD et al., 2007).

Além da disseminação por contato direto, pode ocorrer a transmissão indireta por fômites contaminados com secreções (TIMONEY e McCOLLUM, 1997). A transmissão por fômites foi descrita durante surto em haras na Pensilvânia, no qual o vírus foi indiretamente disseminado à um animal susceptível por garanhão portador. De maneira similar, o vírus foi disseminado entre garanhões na África do Sul por aerossolização das secreções do aparelho reprodutor de garanhões portadores (BELL et al., 2006).

A taxa de morbidade da doença é maior em locais com grandes concentrações de animais. Os cavalos mantidos nestas circunstâncias estão freqüentemente imunossuprimidos decorrente do esforço demandado nos treinamentos e competições (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007). Experimentalmente a taxa de letalidade pode chegar a 33% e, os abortamentos podem atingir 50% em casos naturais ou experimentais (TIMONEY e McCOLLUM, 1997).

2.2.2 ANIMAIS PORTADORES

Timoney et al. (1987) confirmaram o estágio de animais portadores em garanhões da raça Puro Sangue Inglês, utilizando teste de acasalamento e isolamento do vírus a partir do sêmen. Os autores demonstraram que 30 a 60% dos garanhões infectados durante um surto tornam-se portadores do vírus.

Os garanhões persistentemente infectados podem ser divididos em três grupos baseados na duração da eliminação viral no sêmen: de curta duração, que eliminam o vírus durante poucas semanas após a recuperação dos sinais clínicos, de intermediária eliminação, que perdura por 3 a 7 meses em animais naturalmente ou experimentalmente infectados e os de longa duração ou crônicos, que podem eliminar o vírus por anos ou até mesmo por toda a vida (GLASER et al., 1997). Animais persistentemente infectados e portadores de longa duração podem cessar a eliminação viral após alguns anos. Contudo, o mecanismo responsável por esta eliminação do estágio de portador não é clara. Não existem informações concretas de que os animais portadores tornam-se disseminadores intermitentes ou apresentam infecção latente (McCOLLUM et al., 1994).

Garanhões portadores apresentam títulos moderados a altos de anticorpos neutralizantes e eliminam o vírus constantemente no seu sêmen. No entanto, o vírus não está presente no sangue, urina ou outras secreções corpóreas (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2004). O vírus parece estar restrito ao trato reprodutivo e altos títulos virais podem ser demonstrados nas ampolas dos ductos deferentes. As partículas virais possuem predileção pela porção rica do sêmen e

não pelo fluído pré-ejaculatório. Os títulos virais em ejaculados sucessivos em um mesmo garanhão apresentam pouca variação (NEU et al., 1992).

O mecanismo de persistência viral no aparelho reprodutivo dos machos não está totalmente esclarecido. Contudo, evidências apontam que o estágio de animal portador em garanhões é testosterona-dependente. Garanhões que foram castrados e tratados com testosterona continuaram a disseminar o vírus (GLASER et al., 1997). Burger et al. (2006) imunizaram garanhões portadores do vírus com vacina anti-GnRH e verificaram que todos os animais tratados foram convertidos a estágio de não-portadores até seis meses após a imunização, não obtendo êxito no isolamento viral no sêmen. A confirmação do estágio de não-portador foi observada no teste de reprodução com fêmeas soronegativas, no qual não foi demonstrada a soroconversão das éguas 28 dias após o acasalamento.

Holyoak et al. (1993) estudaram a persistência viral em potros machos pré-púberes. Foi constatado que o vírus replica no trato reprodutivo de grande número de potros por períodos variados após a recuperação clínica, mas na ausência de concentrações de testosterona equivalentes àquelas encontradas em garanhões sexualmente maduros os animais não se tornam animais portadores. A infecção persistente não ocorre em fêmeas, animais castrados, fetos e potros machos pré-púberes**.** Deste modo, o vírus não foi isolado do trato reprodutivo de fêmeas soropositivas após um mês da infecção, e fêmeas convalescentes não transmitem a infecção para garanhões durante a cobertura (FUKUNAGA et al., 1997).

A diversidade genética do vírus é exacerbada nas infecções persistentes nos tratos reprodutivos de garanhões portadores, originando novas cepas virais e compensando a reduzida diversidade genética durante os surtos quando o vírus é disseminado por via respiratória. O macho portador é responsável pela geração de heterogenicidade genética que diferencia as cepas de campo (GLASER et al., 1997; LU e MORRESEY, 2007).

2.3 IMUNIDADE

A proteína GP5 contém a maioria dos determinantes antigênicos que são reconhecidos pelo sistema imune do hospedeiro. A interação entre os anticorpos

neutralizantes com o vírus e o mecanismo pelo qual essa reação permite a neutralização viral não é clara (BALASURIYA et al., 1997). Muitos estudos indicam que esta reação é complemento-dependente associada à imunoglobulinas da classe IgG. O mecanismo de neutralização pode depender de propriedades intrínsecas do vírus, tipo celular do hospedeiro e de componentes séricos (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2004).

Infecções naturais e experimentais de cavalos com cepas virulentas e avirulentas resultaram em imunidade de longa duração contra a reinfecção de todas as cepas, incluindo linhagens altamente virulentas (GLASER et al., 1997). A reposta imune humoral frente ao vírus é caracterizada pelo desenvolvimento de anticorpos fixadores de complemento e neutralizantes (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2004).

Anticorpos fixadores de complemento são observados entre uma a duas semanas após a infecção, com pico duas a três semanas pós infecção (PI), apresentando queda constante até desaparecimento da circulação oito meses PI. Contudo, anticorpos neutralizantes são detectados entre uma a duas semanas após a exposição, com pico dois a quatro meses PI e persistindo após a recuperação da infecção por longos períodos, conferindo possivelmente imunidade vitalícia contra a reinfecção (BALASURIYA et al., 1997)

O vírus é geralmente eliminado da circulação dos eqüinos 28 dias após o contato, coincidindo com altos níveis de anticorpos (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2004). No entanto, o vírus permanece no trato reprodutivo de machos portadores por longos períodos apesar da presença de anticorpos neutralizantes na circulação, indicando que a resposta imune humoral isoladamente não previne a replicação viral no sistema reprodutivo do macho (FLORES, 2007).

Potros nascidos de fêmeas soropositivas são protegidos contra a doença clínica pela passagem de anticorpos neutralizantes pelo colostro (FLORES, 2007). Anticorpos neutralizantes são observados poucas horas após a ingestão do colostro, com pico aos sete dias de idade e declínio gradual até a extinção entre 2

(dois) a 6 (seis) meses de idade (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2004).

2.4 PATOGENIA

Os estudos da patogenia foram baseados em cavalos inoculados experimentalmente com variante virulenta da cepa viral Bucyrus (DEL PIERO et al., 2006). Após a infecção via nasal, por aerossóis, o vírus invade inicialmente o epitélio respiratório e os macrófagos alveolares 24 horas pós-infecção (PI). Decorridas 48 horas, o vírus pode ser encontrado nos linfonodos satélites, especialmente nos nódulos linfáticos bronquiais. Após o terceiro dia, se desenvolve viremia e o vírus se replica nos linfonodos broncopulmonares, endotélio e monócitos circulantes (DEL PIERO et al., 2006). Partículas virais podem ser isoladas da nasofaringe 2 -14 dias PI. O vírus é isolado a partir do soro ou plasma 7 a 9 dias PI e o desaparecimento da circulação sangüínea coincide com o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes. O isolamento viral, exceto do sêmen de animais portadores, não é mais obtido decorridos 28 dias do início da infecção (BALASURIYA et al., 2007).

Entre 6 a 8 dias PI, o vírus se localiza entre o endotélio e os miócitos dos vasos sangüíneos e, no décimo dia, ocorre a mais severa alteração vascular. O último sítio a ser invadido é o epitélio tubular renal, no qual o vírus pode persistir por até duas semanas (DEL PIERO, 2000). No trato reprodutivo de potros pré-púberes o vírus permanece por até 180 dias, e em garanhões sexualmente maduros e ativos por meses ou anos (GLASER et al., 1997).

Muitas manifestações clínicas da arterite viral resultam das alterações vasculares provocadas pelo vírus, particularmente a necrose da camada média das artérias (DEL PIERO, 2000). A localização viral induz efeito citopático direto no endotélio e nos miócitos. As alterações nas células endoteliais induzem anóxia ou trombose. O vírus infecta e se replica nas células endoteliais dos vasos sangüíneos e na lâmina elástica subjacente, ganhando a camada média dos vasos afetados. O aumento da permeabilidade vascular e a infiltração leucocitária levam à liberação de fatores quimiotáticos, hemorragia e edema perivascular. Estudos sugerem que os mediadores inflamatórios produzidos pelas células

endoteliais e macrófagos possuem papel crucial na patogenia viral (BALASURIYA et al., 2007).

O abortamento pode ocorrer por miometrite ou pela redução do fluxo sangüíneo fetal. A redução do fluxo sangüíneo no feto é conseqüência da compressão dos vasos sangüíneos induzido pelo edema, ou mesmo pela alteração do tônus vascular causada pela ação dos mediadores inflamatórios. Níveis séricos de progesterona diminuem constantemente devido à hipóxia placentária combinada à liberação local de prostaglandinas. A vasculite associada à trombose também induz isquemia, gerando o descolamento e expulsão de fetos infectados (GLASER et al., 1997; DEL PIERO, 2000).

2.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A exposição ao vírus pode resultar no desenvolvimento de infecções clínicas que variam em severidade dependendo da cepa viral, via de infecção, concentração viral, idade, condições físicas dos animais susceptíveis e condições ambientais (TIMONEY e McCOLLUM, 1997). Embora seja reconhecido somente um sorotipo viral, os sinais clínicos produzidos por diferentes cepas são agrupados por severidade, letalidade e, em infecções inaparentes. A maioria dos casos naturais da infecção são inaparentes. A mortalidade é baixa e ocorre somente nos casos de abortamento e em potros com pneumonia intersticial ou pneumoenterite (BELL et al., 2006).

As manifestações clínicas são precedidas por período de incubação entre 3 a 14 dias nas infecções por via nasal, e de 6 a 8 dias por via venérea (LU e MORRESEY, 2007). Os cavalos em treinamento podem experimentar períodos de queda de performance durante as fases aguda e convalescente da infecção (BELL et al., 2006; TIMONEY e MAcCOLLUM, 1991).

Casos típicos da doença podem apresentar combinação de sinais: febre (41ºC) que pode persistir por 2 a 9 dias, depressão, anorexia, edema de membros (especialmente posteriores), andar rígido, descarga nasal e lacrimal, conjuntivite, uveíte, edema periorbital e supraorbital, edema da parte ventral do abdômen (escroto e prepúcio em machos e glândulas mamárias em fêmeas). Menos

comumente são observados abortamentos e urticária na face lateral do pescoço, face ou generalizada. Outros sinais incluem dispnéia, tosse, dor abdominal, diarréia, ataxia, petéquias na mucosa nasal, conjuntival e oral, erupções papulares, linfadenopatia submandibular, submaxilar e opacidade da córnea. A leucopenia por neutropenia e/ou linfopenia são os achados clínico-laboratoriais mais freqüentes (TIMONEY e McCOLLUM, 1997; BELL et al., 2006; FLORES, 2007; RADOSTITS et al., 2007; WOOD, 2007).

Fêmeas infectadas após a reprodução com machos portadores não apresentam distúrbios de fertilidade (FUKUNAGA et al., 1997). Machos agudamente infectados podem apresentar subfertilidade temporária como resultado do aumento de temperatura testicular. Os machos também podem apresentar redução da libido durante a fase aguda da infecção, aliada à diminuição da motilidade espermática e da concentração e porcentagem de espermatozóides morfologicamente normais nos ejaculados. Estas alterações persistem por mais de 6 a 7 semanas após a infecção. Embora a magnitude dessas alterações seja suficiente para causar deterioração da fertilidade em certos machos, nenhum efeito na qualidade do sêmen foi observado à longo prazo (NEU et al., 1992).

Abortamentos em éguas não são precedidos por sinais premonitórios e podem ocorrer na fase aguda ou convalescente da infecção. Têm-se registrado casos de abortamentos por infecção natural ou experimental entre o 3º até o 10º mês de gestação. A ocorrência de abortamentos em éguas susceptíveis varia amplamente, entre 10% a 60%. Infecção com a cepa que causou o surto em Kentucky em 1984 resultou em 71% de abortamento. A exposição de éguas prenhes ao vírus em períodos tardios da gestação pode não produzir o abortamento. No entanto, potros infectados congenitamente quase que, invariavelmente, sucumbem à pneumonia intersticial progressiva dentro dos primeiros 3 - 4 dias de vida (GLASER et al., 1997; TIMONEY e McCOLLUM,1997).

2.6 DIAGNÓSTICO

Classicamente, o diagnóstico da arterite viral eqüina é baseado nos achados clínico-epidemiológicos da doença, apoiado em exames laboratoriais subsidiários. Comumente a suspeita diagnóstica é confirmada pelo isolamento viral, provas sorológicas e/ou histopatológicas (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007) e, na última década, por técnicas moleculares (BALASURIYA et al., 2002). Tal recomendação faz-se necessária em virtude da similaridade da arterite viral eqüina com doenças como rinopneumonite (*Herpesvirus* Eqüino tipo 4), influenza (*Orthomixovirus*) e abortamento eqüino a vírus (WOOD et al., 2007).

As lesões macroscópicas são conseqüências das alterações vasculares. Edema, congestão e hemorragia de tecidos subcutâneos, linfonodos e vísceras são as lesões mais freqüentemente encontradas à necropsia de eqüinos com arterite viral (DEL PIERO, 2000). Em potros com infecção fatal observa-se severo edema pulmonar difuso, efusão pleural e pericárdica, petéquias e equimoses em serosas e hemorragias na mucosa do intestino delgado (WOOD et al., 2007).

Fetos abortados após infecção natural ou experimental freqüentemente não apresentam lesões macroscópicas ou histopatológicas evidentes. Os fetos geralmente apresentam-se parcialmente autolisados no momento da expulsão e revelam aumento de fluído peritoneal e pleural, bem como hemorragias petequiais nas mucosas dos aparelhos respiratório, digestório e nas serosas da cavidade peritoneal e pleural. A placenta não apresenta alterações e é expelida junto com o feto (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007). A superfície do endométrio das éguas que abortaram apresenta-se edemaciada e hemorrágica (DEL PIERO, 2000; RADOSTITS et al., 2007).

As lesões microscópicas são observadas em vários sistemas, mas os vasos sanguíneos são os principais alvos da ação do vírus. As lesões histopatológicas são caracterizadas por panvasculite, incluindo hemorragia, edema e necrose da parede dos vasos, acompanhado por infiltração de linfócitos e neutrófilos (DEL PIERO, 2000). Trombose vascular associada ao infartamento tecidual estão presentes em pulmões, glândulas adrenais e intestino grosso, somados à extensa

necrose linfóide nos centros germinativos dos nódulos linfáticos bronquiolares e mesentéricos (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007).

As lesões no trato reprodutivo foram descritas em potros pré-púberes inoculados experimentalmente. Aguda vasculite necrotizante envolvendo testículo, epidídimo, vasos deferentes, ampola, próstata, glândulas vesiculares e bulbouretrais foram observados durante a infecção aguda entre 7 a 14 dias após a infecção (HOLYOAK et al., 1993).

As infecções agudas podem ser diagnosticadas pelo isolamento viral ou pela identificação de aumento de quatro vezes no título de anticorpos neutralizantes em amostras colhidas nas fases aguda e convalescente, com 3 a 4 semanas de intervalo entre a amostragem. Nos casos de abortamento, recomenda-se que o isolamento viral seja realizado a partir de tecidos fetais e placentários ou pela demonstração de soroconversão na fêmea. Infecção persistente nos machos pode ser diagnosticada inicialmente pela demonstração de títulos ≥ 4 e confirmada pelo isolamento viral no sêmen, ou mesmo pelo teste de acasalamento com duas fêmeas soronegativas monitoradas para soroconversão (GLASER et al., 1997; OIE, 2004).

Vários são os métodos sorológicos descritos para o diagnóstico viral. Entretanto, o teste de soroneutralização é indicado como padrão pela Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE), em virtude da grande produção de anticorpos neutralizantes desenvolvidos entre 1 a 2 semanas após o início da infecção, que persistem no sangue dos animais convalescentes durante vários anos (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2004). A soroneutralização é recomendada pela OIE como método de alta sensibilidade e especificidade, além de possibilitar o diagnóstico de infecções agudas e estudos de soroprevalência.

Os anticorpos encontrados no soro sangüíneo dos eqüinos infectados, tanto na fase aguda como na de convalescência, são considerados bons indicadores da infecção. Segundo SENNE (1985), a microssoroneutralização é reconhecida como teste de referência para a demonstração de anticorpos contra o vírus. Com vistas a contornar desvantagens técnicas da detecção sérica destes anticorpos pela

soroneutralização, têm sido utilizados também outros métodos sorológicos no imunodiagnóstico, entre os quais se destacam: o teste de redução em placa, a reação de fixação do complemento, a reação de imunodifusão, a reação de imunofluorescência indireta, a reação imunoenzimática de ELISA - *Enzyme linked immunosorbent assay* (OIE, 2004).

O isolamento viral em cultura celular pode ser realizado a partir de suabs ou lavados nasofaringeanos, suabs conjuntivais, amostras de sangue não-heparinizadas e sêmen. Placenta, fluídos fetais, pulmão, baço, e tecidos linfóides de fetos abortados devem ser colhidos para confirmação dos casos de abortamento (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007). Órgãos, linfonodos do trato gastrintestinal e respiratório devem ser colhidos em casos suspeitos da forma pneumoentérica. As amostras devem ser colhidas o mais próximo do início dos sinais clínicos e os suabs nasofaringeanos e conjuntivais imediatamente acondicionados em meio de transporte apropriados. Com exceção das amostras de sangue que devem ser refrigeradas, todas as outras amostras podem ser enviadas congeladas ao laboratório para o isolamento viral (HOLYOAK et al., 2008).

A imunohistoquímica também é considerada método rápido para o diagnóstico do vírus em tecidos fixados em formol ou parafina, congelados e, ocasionalmente, colhidos por biópsia (HOLYOAK et al., 2008). A reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT- PCR) foi desenvolvida para a detecção dos ácidos nucléicos do vírus da arterite eqüina em culturas celulares e amostras clínicas (BALASURIYA et al., 2002).

O diagnóstico diferencial deve ser procedido para vários microorganismos incluindo doenças como herpesvírus eqüino tipo 1 e 4, influenza eqüina (*Orthomyxovirus* A1 e A2), adenovírus eqüino, anemia infecciosa eqüina (*Lentivirus*), vírus Hendra (*Morbilivírus*), vírus Getah (*Togavirus*), urticária, choque, púrpura hemorrágica, peste eqüina africana (*Orbivirus*), intoxicação e síndrome urêmica hemolítica (DEL PIERO, 2006).

2.7. PREVENÇÃO E CONTROLE

A arterite viral dos eqüinos é uma doença controlável. A instituição de programas de prevenção e controle reduz os riscos potenciais de disseminação do vírus, principalmente, em uma população destinada à reprodução, minimizando o risco de abortamento e impedindo o estabelecimento de machos portadores. Um dos pilares dos programas de prevenção da arterite viral dos eqüinos é a vacinação. Uma vacina viva modificada (ARVAC ™ Fort Dodge Labs) é licenciada para uso nos Estados Unidos e Canadá, enquanto outra inativada é licenciada para uso no Reino Unido, Irlanda, França, Hungria e Dinamarca (ARTERVAC ™- Fort Dodge Labs). No Brasil não há vacina de arterite licenciada para utilização em eqüinos (MAcLACHLAN et al., 2007).

A vacinação com a cepa atenuada não é indicada para uso em fêmeas prenhes, especialmente nos últimos dois meses de gestação, ou em potros com menos de seis semanas de idade. Com efeito, as indicações primárias para o uso da vacina são: a prevenção de infecções clínicas de fêmeas soronegativas que se reproduziram com machos portadores, prevenção do estabelecimento de estado portador em machos e contenção da transmissão via aerossol durante surtos de doença respiratória (FUKUNAGA et al., 1997; HOLYOAK et al., 2008).

Embora a vacinação primária previna o aparecimento de sinais clínicos por período de 1 a 3 anos e o estabelecimento do estágio portador, a mesma não previne a reinfecção, replicação e a disseminação do vírus.

O vírus vacinal atenuado não é disseminado pelo sêmen e urina em animais recentemente vacinados. Contudo, pode ser isolado da nasofaringe por até 28 dias após a vacinação (MAcLACHLAN et al., 2007).

Vacinas com vírus inativados previnem tanto a disseminação viral em machos reprodutores quanto os abortamentos em fêmeas sem o risco de disseminação do vírus vacinal para outros cavalos. Estas propriedades vacinais são altamente desejáveis quando a vacina é utilizada para proteção da população soronegativa em países ou populações livres da doença (FUKUNAGA et al., 1997).

Arvac ™ Fort Dogde Laboratories (Fort Dodge Animal Health, Iowa, USA)

Artervac ™ Fort Dogde Laboratories (Fort Dodge Animal Health, Iowa, USA)

Estudos recentes indicam que a idade ótima para a vacinação de potros para a prevenção do estado portador é ao redor de seis meses de idade, após o declínio dos anticorpos maternos e antes do desenvolvimento da puberdade. Anticorpos neutralizantes são induzidos entre 5 a 8 dias após a vacinação com a vacina atenuada e persistem por dois anos. A revacinação aumenta a resposta sorológica que persiste por muitas estações reprodutivas (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007).

Muitos países não importam animais soropositivos em testes de soroneutralização para arterite, em virtude da impossibilidade de distinção entre a resposta vacinal e a infecção natural. A imunização pode gerar resultados falso-positivos em testes sorológicos em animais destinados à exportação. A vacinação de fêmeas vazias e de machos não-infectados antes da estação reprodutiva é recomendada somente em circunstâncias especiais e deve ser controlada pelos órgãos competentes do governo. Testes sorológicos que identificam cavalos soronegativos antes da vacinação não garantem que estes animais terão livre acesso em países estrangeiros ou em haras (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2004; OIE, 2004).

Técnicas de biologia molecular têm sido utilizadas nos últimos anos para a produção de vacinas inativadas de subunidades, que permitam a distinção entre animais vacinados daqueles naturalmente infectados, com a premissa de que auxiliarão na erradicação em países onde a doença é endêmica em eqüinos (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2004).

As ações de controle voltadas à arterite estão apoiadas nas peculiaridades de virulência do microorganismo e na epidemiologia da doença nos eqüinos. O macho portador é o reservatório natural do vírus e possui papel primordial na transmissão e manutenção do vírus nos criatórios. Assim, surtos da doença podem ser prevenidos pela identificação de machos portadores e por práticas que previnam a introdução de animais infectados (WOOD et al., 2007).

Todos os machos antes da vacinação devem ser testados para a presença de anticorpos. Títulos ≥ 4 de anticorpos neutralizantes são considerados positivos. Machos soronegativos vacinados devem ser revacinados 28 dias antes da estação

de monta ou da colheita de sêmen, além de receberem revacinação anual. Machos soropositivos não-vacinados devem ser testados para eliminação viral, por isolamento no sêmen, ou por teste de acasalamento com duas fêmeas soronegativas, que são monitoradas para soroconversão entre 14 a 28 dias após a cobertura. Machos positivos após a infecção natural não precisam ser vacinados (HOLYOAK et al., 2008). A vacinação de potros é recomendada para prevenir o futuro estabelecimento de portadores nestes animais, sendo a idade ótima para vacinação entre 6 a 12 meses de idade (GLASER et al., 1997).

Machos portadores do vírus podem ser utilizados para a reprodução, desde que rigorosos requisitos sejam cumpridos. Estes animais devem ser mantidos isolados fisicamente e se reproduzirem apenas com éguas soropositivas, a partir de uma exposição natural ou vacinação (LU e MORRESEY, 2007). Fêmeas devem ser mantidas isoladas dos outros animais soronegativos durante três semanas após terem sido cobertas com macho portador ou, após inseminação com sêmen infectado. É fundamental que os machos portadores sejam isolados e manejados separadamente para evitar a contaminação de equipamentos e instalações com ejaculados, pois o vírus pode ser transmitido à animais susceptíveis por contato indireto via aerossolização das secreções (BALASURIYA e MAcLACHLAN, 2007).

Na vigência de surtos, a propriedade deve ser notificada, o estabelecimento isolado, a circulação de cavalos descontinuada e a atividade reprodutiva impedida, com o intuito de se evitar a propagação do vírus. Instalações e equipamentos devem ser descontaminados com desinfetantes. A quarentena é descontinuada quando não há mais casos clínicos da doença ou evidências sorológicas de infecção durante período de pelo menos três semanas (OIE, 2004).

No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento instituiu, a partir de 2008, medidas zoosanitárias específicas para arterite viral eqüina visando a proteção do país contra esta doença.

Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil, animais importados temporariamente para fins não reprodutivos deverão passar por uma inspeção no momento do embarque e deverão ser procedentes de

propriedades/estabelecimentos onde não foram relatados a ocorrência de arterite viral eqüina durante os 90 dias anteriores ao embarque. Durante a quarentena os mesmos deverão ser submetidos à provas de diagnóstico, em laboratório oficial ou credenciado e apresentarem resultado negativo para a arterite viral eqüina segundo o teste de soroneutralização. Se o macho apresentar resultado sorológico positivo ele deverá ser submetido a uma prova de isolamento viral no sêmen, cujo resultado deverá ser negativo ou, à uma prova utilizando monta natural com duas fêmeas que deverão apresentar resultados negativos em duas provas realizadas em amostras sangüíneas coletadas no dia da monta e a segunda 28 dias após. Poderá ser aceita a vacinação, quando esta for realizada imediatamente após a obtenção de resultado negativo em 1 (uma) prova de soroneutralização, realizada entre 6 a 12 meses de idade, respeitando os prazos de revacinação estabelecidos e a última vacinação não deverá ser realizada no prazo de 30 dias anteriores ao embarque. Nesse caso, ficará dispensada a realização de provas sorológicas para essa doença durante o período de quarentena, devendo ajustar-se aos critérios estabelecidos anteriormente (MAPA, 2008).

Os eqüinos importados com caráter definitivo e aqueles importados para fins reprodutivos devem ser quarentenados em um local aprovado no país de procedência, sob supervisão do Serviço Veterinário Oficial, por um período mínimo de 14 dias. Durante o período de quarentena, os animais deverão ser submetidos à provas de diagnóstico em laboratório oficial ou credenciado. No caso da arterite viral eqüina, fêmeas e machos castrados devem apresentar títulos de anticorpos negativos, decrescentes ou estáveis em 2 provas de soroneutralização, realizadas em amostras sangüíneas obtidas com intervalo mínimo de 14 dias e não mais de 28 dias anteriores ao embarque. Garanhões devem apresentar resultados negativos em duas provas realizadas em amostras sangüíneas obtidas com intervalo mínimo de 14 dias entre elas e não menos de 28 dias anteriores ao embarque; ou no caso de apresentar resultado positivo em uma das provas o animais deverá ser submetido a uma prova de isolamento viral no sêmen, cujo resultado deverá ser negativo, ou 1 (uma) prova utilizando monta natural com

duas éguas que apresentaram resultados negativos em duas provas realizadas em amostras sangüíneas, sendo a primeira coletada no dia da monta e a segunda 28 dias após. Poderá ser aceita a vacinação, quando esta for realizada imediatamente após a obtenção de resultado negativo em 1 (uma) prova de soroneutralização, realizada entre 6 (seis) e 12 (doze) meses de idade, respeitando-se os prazos de revacinação estabelecidos e a última vacinação não deverá ter sido realizada no prazo de 30 (trinta) dias anteriores ao embarque. Nesse caso, ficará dispensada a realização de provas sorológicas para essa doença durante o período de quarentena, devendo ajustar-se aos critérios estabelecidos anteriormente (BRASIL, MAPA, 2008).

Toda importação de sêmen eqüino congelado deverá estar acompanhada de Certificado Veterinário Internacional, emitido pelo Serviço Veterinário Oficial do país de origem do sêmen em um período de 10 (dez) dias anteriores ao embarque. Os exames laboratoriais deverão ser realizados em laboratórios oficiais ou credenciados pelo Serviço Veterinário Oficial do país de origem do sêmen e a coleta deverá ser supervisionada pelo Serviço Veterinário Oficial do país de origem do sêmen. Não é permitida a exportação do sêmen antes do período de 30 dias posteriores a sua coleta, período no qual os doadores serão mantidos sob supervisão veterinária oficial sem apresentar evidência clínica de doenças transmitidas pelo sêmen. Os doadores de sêmen deverão ser submetidos, durante o período de isolamento prévio ao ingresso no Centro de Coleta e Processamento do Sêmen e repetidas a cada 6 (seis) meses enquanto permanecerem no mesmo, a provas de diagnóstico para durina, metrite contagiosa eqüina e arterite viral eqüina. No caso da arterite viral eqüina os doadores não devem apresentar sinais clínicos no dia da coleta de sêmen e, no caso de sêmen fresco, os mesmos deverão permanecer, durante os 30 dias anteriores à coleta do sêmen, em uma propriedade em que nenhum eqüino apresentou sinais clínicos da doença durante esse período. Os doadores deverão possuir resultados negativos à uma prova de soroneutralização efetuada a partir de uma amostra de sangue coletada entre os 6 e os 12 meses de idade e forem imediatamente vacinados sob supervisão oficial, contra a doença ou revacinados periodicamente ou, no caso de sêmen congelado,

os doadores deverão possuir resultados negativos a uma prova de soroneutralização efetuada a partir de uma amostra de sangue realizada pelo menos 14 dias após a coleta do sêmen e, para o caso de sêmen fresco, os animais devem apresentar resultados negativos à uma prova de soroneutralização, efetuada a partir de uma amostra de sangue realizada 14 dias anteriores à coleta do sêmen e não foram utilizados para monta natural entre o período da coleta do sangue e da coleta do sêmen. Poderá ser permitido um resultado positivo à uma prova de soroneutralização nos doadores desde que os mesmos, durante o ano anterior à coleta do sêmen ou imediatamente após a referida coleta, tenham sido submetidos à uma monta natural com duas fêmeas que foram negativas à duas provas realizadas a partir de amostras sangüíneas, sendo a primeira coletada no dia da monta e a segunda, 28 dias após. No primeiro caso, os doadores não foram utilizados para monta natural após procedimento realizado com as duas fêmeas negativas até a obtenção do sêmen destinado à exportação ou, os doadores, no período não maior que 1 ano anterior à coleta do sêmen para exportação, tenham sido submetidos à uma prova para detecção do agente conforme preconizado pela OIE, efetuada em uma amostra de sêmen, com resultado negativo, e os doadores não foram utilizados para monta natural após a coleta da amostra para o teste e até a obtenção do sêmen destinado à exportação (BRASIL,MAPA, 2008).

Toda importação de embriões de eqüino deverá estar acompanhada de Certificado Veterinário Internacional, emitido pelo Serviço Veterinário Oficial do país de origem dos embriões por um período não maior que 10 dias anteriores ao embarque. As doadoras de embrião devem apresentar ausência de anticorpos para a doença em duas provas de soroneutralização realizadas em amostras sangüíneas obtidas com intervalo mínimo de 14 dias e dentro dos 28 dias anteriores à coleta dos embriões. No caso de eqüinos vacinados, nenhum teste será exigido desde que os mesmos tenham sido testados negativos para a doença, pelo método de soroneutralização, entre os 6 e 12 meses de idade, quando foram imediatamente vacinados após o resultado negativo, cuja

revacinação tenha sido realizada periodicamente e a última revacinação ocorrida há pelo menos 40 dias anteriores à coleta de embrião (BRASIL,MAPA, 2008).

A instituição dessas medidas zoosanitárias específicas em nosso país é recente e os resultados positivos da sua implementação somente poderão ser visualizados à longo prazo.

3. OBJETIVOS

A arterite viral eqüina causa perdas econômicas significativas relacionada ao tempo de recuperação dos eqüinos, aos produtos perdidos pelo abortamento e a restrição imposta à movimentação dos animais.

Considerando o grande número de criatórios de eqüinos no estado de São Paulo, o impacto da arterite viral na saúde eqüina e o reduzido número de investigações da doença no país, faz-se necessário estudos mais detalhados sobre a arterite viral eqüina com o intuito de determinar a real importância da doença no estado de São Paulo.

Os recentes surtos da doença na América do Sul e Europa associados ao intenso trânsito de eqüinos e a utilização de tecnologia na reprodução predispõem o estado de São Paulo à introdução e circulação do vírus na população de eqüinos do estado.

Sabendo da importância da arterite viral eqüina na equideocultura mundial e das perdas econômicas à ela relacionada o presente estudo teve como objetivo:

- Avaliar a ocorrência de anticorpos soroneutralizantes para o vírus da arterite equina em cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas, regiões que apresentam grande importância no mercado eqüestre nacional e internacional utilizando a técnica de soroneutralização preconizada pela Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE) em estudos de soroprevalência.

- Realizar análise descritiva da freqüência de animais sororeagentes segundo sexo, faixa etária, raças e regiões/municípios amostrados.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. PROPRIEDADES

O presente trabalho foi baseado nos dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) do ano de 2005, no qual o estado de São Paulo é classificado em 15 Mesorregiões Geográficas e subclassificado em 63 Microrregiões Geográficas. Foram colhidas amostras de soros sangüíneos de eqüinos criados em cinco Microrregiões Geográficas (Bragança Paulista, Jundiaí, Amparo, Campinas, Mogi Mirim), pertencentes às Mesorregiões Geográficas de Campinas e Macro Metropolitana Paulista, incluindo 238 propriedades em 42 municípios (**Figura 1 e Tabela 2**).

Figura 1. Mapa do estado de São Paulo representando os municípios amostrados.

Tabela 1. Número de eqüinos pertencentes às Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2005.

Mesorregião Geográfica	Microrregião Geográfica	Município	Nº Animais
Campinas	Mogi Mirim	Artur Nogueira	455
		Engenheiro Coelho	480
		Estiva Gerbi	640
		Itapira	3.930
		Mogi Guaçu	4.500
		Mogi Mirim	1.800
		Santo Antônio de Posse	300
Campinas	Campinas	Americana	650
		Campinas	2.900
		Elias Fausto	465
		Holambra	130
		Indaiatuba	915
		Jaguariúna	1.500
		Monte Mor	5.000
		Nova Odessa	280
		Pedreira	160
		Santa Bárbara do Oeste	600
		Sumaré	510
		Valinhos	650
		Vinhedo	145
Campinas	Amparo	Águas de Lindóia	350
		Amparo	4.100
		Lindóia	290
		Monte Alegre do Sul	320
		Pedra Bela	1.000
		Pinhalzinho	1.100
		Serra Negra	930
		Socorro	2.120
Macro Metropolitana Paulista	Jundiaí	Campo Limpo Paulista	308
		Itupeva	640
		Jundiaí	367
Macro Metropolitana Paulista	Bragança Paulista	Atibaia	1.150
		Bom Jesus dos Perdões	230
		Bragança Paulista	2.200
		Itatiba	950
		Jarinu	261
		Joanópolis	1.000
		Morungaba	580
		Nazaré Paulista	900
		Piracaia	1.100
		Tuiuti	800
		Vargem	650
Total			47.356

Tabela 2. Número de propriedades, municípios, animais e média de animais por propriedade colhidos nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas, para o diagnóstico sorológico da arterite viral eqüina. Botucatu, SP, 2010.

Mesorregião Geográfica	Microrregião Geográfica	Nº propriedades	Nº Municípios	Nº Animais	Média animais/ propriedade
Campinas	Amparo	30	8	105	3,5
Campinas	Campinas	79	13	682	8,6
Campinas	Mogi Mirim	26	7	145	5,5
Macro Metropolitana Paulista	Bragança Paulista	90	11	401	4,4
Macro Metropolitana Paulista	Jundiaí	13	3	67	5,1
Total		238	42	1400	5,8

Nº: número

4.2 CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

As 1.400 amostras de soro colhidas foram classificadas segundo a sua localização geográfica, sexo, idade e raça a fim de se verificar a influência desses fatores na ocorrência de anticorpos para o vírus da arterite viral eqüina.

Foram colhidos 665 animais do sexo masculino e 735 animais do sexo feminino. Segundo a raça os animais foram assim classificados: American Troter (5 animais), Apaloosa (17 animais), Árabe (193 animais), Brasileiro de Hipismo (113 animais), Bretão (12 animais), Campolina (45 animais), Crioulo (15 animais), Hanoveriano (1 animal), Hessen (1 animal), Holstainer (4 animais), KWPN (5 animais), Lusitano (114 animais), Mangalarga (326 animais), Paint Horse (16 animais), Puro Sangue Inglês (232 animais), Quarto de Milha (120 animais), Sela Argentina (5 animais), Sela Francesa (1 animal), Sela Holandesa (6 animais), Sem-raça-definida (165 animais) e West Falen (4 animais).

Com relação à faixa etária estes animais foram subdivididos em 5 grupos a saber: Grupo 1: animais com idade igual ou inferior à 6 meses de idade (33 animais), Grupo 2: animais acima de 6 meses e igual ou inferior a 24 meses de idade (239 animais), Grupo 3: animais acima de 24 meses e igual ou inferior a 72 meses de idade (483 animais), Grupo 4: animais acima de 72 meses e igual ou inferior a 120 meses de idade (365 animais) e Grupo 5 constituído por animais

com idade superior à 120 meses de idade (280 animais). A idade dos animais foi determinada pelo proprietário do animal no momento da colheita da amostra de sangue.

4.3 CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL

O tamanho da amostra foi calculado tendo como referência o número de animais descrito pelo IBGE 2005 (**Tabela 1**). Frente a uma população estudada disponível de 47.356 eqüinos nas Mesorregiões Geográficas Macro Metropolitana Paulista e Campinas foi realizada a avaliação sorológica da Arterite Viral Eqüina nesses animais estimando a prevalência de soropositividade em 6% (+-2%), e considerando como 2 o efeito de delineamento pelas dificuldades na amostragem sistemática. Segundo esta estimativa deveriam ser avaliados, no mínimo, 1.069 animais, a fim de se obter intervalo de confiança de 95% (DEAN e SULLIVAN, 2007). No presente estudo foram avaliados 1.400 animais. O excedente de amostras colhidas, 31% ou 331 amostras, foi distribuído nos vários grupos experimentais com vistas a melhorar a margem de segurança do estudo.

4.4 COLHEITA DE MATERIAL

As amostras de sangue foram colhidas no período compreendido entre os meses de janeiro de 2007 a dezembro de 2008. Para a obtenção de soro sangüíneo foram colhidas amostras de sangue de eqüinos através da punção da veia jugular externa, utilizando agulha 30X8 e Sistema Vacutainer^{R}, em tubos de vidro siliconizados sem anticoagulante, providos de tampa de borracha e com vácuo para aspirar volume de 10 ml (**Figura 2**).

Após a colheita, as amostras de sangue foram mantidas em temperatura ambiente até a coagulação e completa retração do coágulo. O soro sangüíneo obtido foi separado por aspiração, aliquotado em três microtubos, identificados e armazenados em congelador à temperatura de -20°C, até a realização da reação de soroneutralização para a detecção da presença de anticorpos contra o vírus da arterite equina. As amostras de soro foram processadas no Laboratório de Raiva e

Encefalites do Centro de Desenvolvimento de Sanidade Animal do Instituto Biológico de São Paulo.

Figura 2. Colheita de sangue por punção da veia jugular em eqüinos, Campinas, SP, 2008.

4.5 DETECÇÃO DE ANTICORPOS SORONEUTRALIZANTES

4.5.1 Culturas celulares

A amostra padrão do vírus da arterite eqüina, Bucyrus, foi mantida em cultura de células RK-13 (células de rim de coelho).

Para o sub-cultivo, a monocamada foi lavada com tripsina. Após a remoção da solução de tripsina, as células foram destacadas da garrafa para elaboração de suspensão celular adicionando-se o meio MEM de Eagle contendo 10% de soro fetal bovino e antibióticos a 1%. Em seguida, as células eram repicadas na proporção 1:3, de modo a apresentarem concentração final de 300.000 células/mL.

4.5.2 Titulação do vírus

A titulação do vírus da arterite eqüina utilizado no estudo (cepa Bucyrus) foi realizada antes do desenvolvimento da técnica de soroneutralização através do teste de *end-point dilution*. Diluições seriadas do estoque do vírus da arterite foram inoculadas em culturas celulares nas quais o número de células foi previamente

estabelecido (100 µl contendo 300.000 células/mL). Após o período de incubação, o número de culturas celulares infectadas foi determinado para cada diluição do vírus mediante a visualização do efeito citopático, possibilitando o cálculo da dose infectante do vírus.

A titulação do vírus foi realizada em microplacas de 96 cavidades. Utilizou-se uma amostra de vírus e procedeu-se a diluição seriada na base dez em tubos de vidro estéreis. Após a diluição colocou-se 25 µl de cada diluição em orifícios da placa (1A-1H). Finalmente, adicionou-se em todos os orifícios, 100 µl de suspensão de células, contendo 300.000 células por mL, sendo essas células contadas em câmara de Neubauer.

A microplaca foi então incubada a 37ºC por 72 horas. Após este período, foram realizadas as leituras com o intuito de verificar a presença de replicação viral, considerando-se positivas as monocamadas com efeito citopático. A partir desses resultados o título viral presente na suspensão foi calculado em dose infecciosa 50% para cultura de tecidos (50% *tissue culture infective doses* –DICT $_{50}$/25 µl), pelo método de REED e MUENCH (1938).

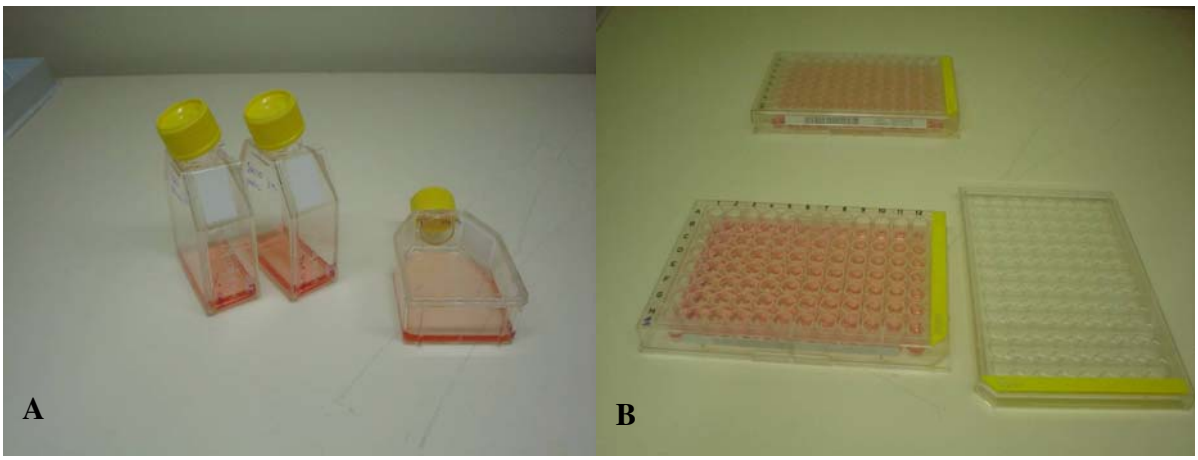

Figura 3. Cultura celular da Linhagem RK-13 para diagnóstico da arterite viral dos eqüinos (A). Preparação de microplacas para titulação do vírus (B). Fotos gentilmente cedidas pelas Dras. Maria do Carmo Custódio de Souza Hunold Lara e Elenice Maria Sequetin Cunha do Instituto Biológico de São Paulo. São Paulo, SP, 2009.

4.5.3 Técnica de Soroneutralização

Inicialmente todos os soros a serem testados passaram por um processo de triagem em microplacas com capacidade para 96 soros onde somente uma diluição do soro foi feita, isto é 1:4. Somente os soros reagentes nessa diluição foram selecionados e submetidos à técnica de soroneutralização completa onde foi realizada a titulação com diluição seriada.

Após a triagem preparou-se a placa para a realização da técnica de soroneutralização com os soros selecionados. Foram adicionados 25µl de meio MEM de Eagle, contendo antibióticos em todos os 96 orifícios de fundo chato da placa.

A fileira correspondente a 1A à 1H foi utilizada como controle de células, na qual não foi adicionado soro ou vírus. As colunas 2 até 5 foram utilizadas para controle de vírus, distribuídas como se segue: 2A à 2H (100DICT $_{50}$); 3A à 3H (10 DICT $_{50}$); 4A à 4H (1 DICT $_{50}$); 5A à 5H (0,1 DICT $_{50}$). A coluna 6 foi utilizada como controle soro negativo e a coluna 7 como controle soro positivo. As colunas numeradas de 8 a 12 de cada placa foram utilizadas para os soros testes.

As amostras de soros testes, foram anteriormente inativadas durante 30 minutos em banho maria a 56°C. A seguir, 25 µl desses soros foram adicionados nos primeiros orifícios horizontais da placa numerados de 8 A à 12 A. A partir do segundo orifício o soro foi diluído seriadamente (1:4 a 1: 4096) com o auxílio de uma pipeta automática multicanal. Os soros controle positivo e negativo também foram diluídos.

Uma diluição de vírus contendo de 100DICT$_{50}$ / 25 µl foi preparada utilizando como diluente o meio MEM de Eagle com antibiótico, sem soro fetal bovino, porém contendo complemento fresco de cobaia numa diluição final de 10%. O antígeno assim preparado foi a seguir adicionado 25 µl em todos os orifícios da placa contendo soro (6A-H a 12A-H). A seguir, as microplacas foram agitadas adequadamente, promovendo-se a homogeneização do soro com o vírus para posterior incubação a 37°C, durante 1 hora em estufa de CO_2. Após essa incubação foram adicionados a cada orifício da placa, 100µl de suspensão contendo 300.000 células / ml em meio MEM de Eagle com antibiótico e soro fetal

bovino a 10%. A seguir as microplacas foram novamente incubadas em estufa de CO_2 a 37°C e a leitura realizada após 72 horas, utilizando microscópio invertido.

A presença de anticorpos soroneutralizantes na diluição testada previne a produção de efeito citopático pelo vírus nos cultivos. A ocorrência de efeito citopático indica ausência de anticorpos soroneutralizantes suficientes para neutralizar o vírus, na respectiva diluição, resultando em reação negativa (SEENE et al., 1985).

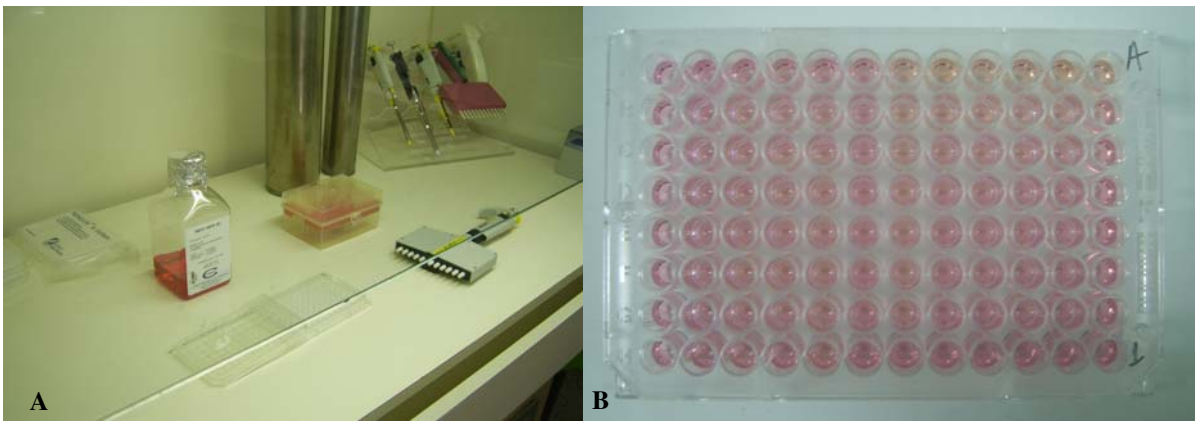

Figura 4. Câmara de fluxo contínuo onde foram preparadas as microplacas para o teste de soroneutralização para o diagnóstico da Arterite viral dos equinos (A). Microplaca preparada contendo a mistura soro-vírus-células após a última incubação e antes da realização da leitura dos resultados (B). São Paulo, SP, 2009.

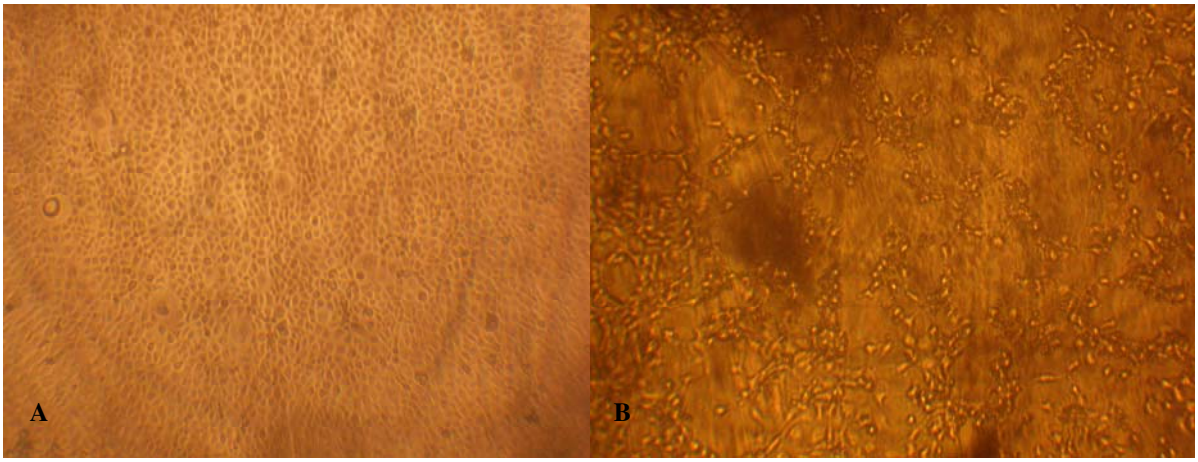

Figura 5. Orifício da microplaca de teste de soroneutralização sem a presença do efeito citopático do vírus da arterite eqüina em células RK-13 (A). Orifício da microplaca de teste de soroneutralização evidenciando o efeito citopático em células RK-13 (B). Fotos gentilmente cedidas pelas Dras. Maria do Carmo Custódio de Souza Hunold Lara e Elenice Maria Sequetin Cunha, Instituto Biológico/SP. São Paulo, SP, 2009.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 1.400 amostras de soro sangüíneo analisadas pela técnica de soroneutralização, 80 (5,71%) apresentaram anticorpos contra o vírus da arterite eqüina e 1.320 (94,29%) apresentaram títulos menores do que 4 sendo assim consideradas negativas.

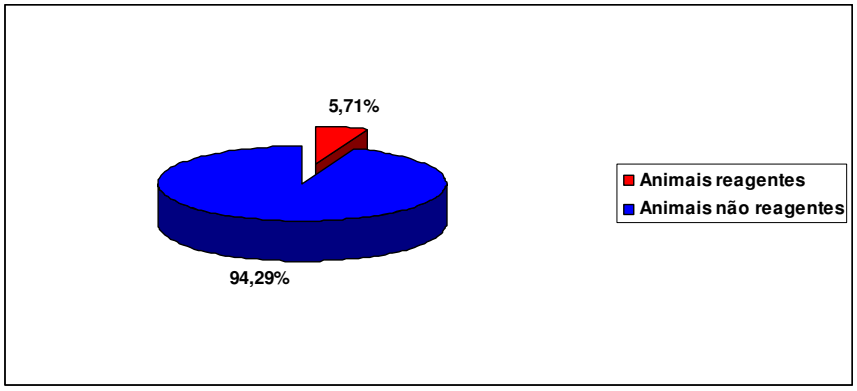

Gráfico 1. Distribuição da freqüência de animais reagentes e não reagentes para o vírus da Arterite eqüina na prova de soroneutralização em cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas. Botucatu, SP, 2010.

A ocorrência de animais reagentes encontrada neste estudo foi menor que a descrita por LARA et al. (2002), que evidenciaram 18,2% de cavalos positivos para o vírus da arterite em eqüinos criados no estado de São Paulo.

Em contraste, nossos resultados foram superiores aos encontrados no estado do Rio Grande do Sul onde 2,2% dos animais estudados mostraram-se reagentes para o vírus (DIEL et al., 2006), no estado de Minas Gerais onde BELLO et al. (2007) verificaram 0,85% de eqüídeos soropositivos para a doença utilizando o teste de soroneutralização e, em Curitiba onde LARA et al. (2003) evidenciaram 2,9% de animais reagentes ao vírus da arterite (**Tabela 3**). Os nossos resultados também foram superiores aos estudos conduzidos por RICHTZENHAIN et al. (2002) no município de Uruará no Pará, LARA et al. (2006) em cavalos de carroceiros de Curitiba e região metropolitana, AGUIAR et al. (2008) no município de Monte Negro, Rondônia e por CUNHA et al. (2009) em cavalos criados no sul

do Estado de São Paulo que não encontraram nenhum animal positivo para o vírus da arterite eqüina.

Tabela 3. Estudos de soroprevalência de anticorpos contra o vírus da arterite eqüina em cavalos criados em diferentes estados do Brasil, utilizando a técnica de soroneutralização. Botucatu, SP, 2010.

Raça	Ano	Técnica	Nº Animais	Local	Autor	% positivos
Não informado	2002	Soroneutralização	96	Uruará/PA	RICHTZENHAIN, et al.	0%
Mangalarga, PSI, Árabe, Quarto de Milha, SRD	2002	Soroneutralização	659	Estado de SP	LARA, et al.	18,20%
PSI	2003	Soroneutralização	70	Curitiba/PR	LARA, et al.	2,90%
Animais de esporte	2006	Soroneutralização	1506	Estado do RS	DIEL, et al.	2,20%
SRD	2006	Soroneutralização	97	Curitiba/PR	LARA, et al.	0%
SRD, Mangalarga Marchador, Quarto de Milha, Campolina, Árabe, Pônei, Pampa, Muar	2007	Soroneutralização	826	Estado de MG	BELLO, et al.	0,85%
Não informado	2008	Soroneutralização	176	Monte Negro/RO	AGUIAR, et al.	0%
Não informado	2009	Soroneutralização	163	Sul do Estado de SP	CUNHA, et al.	0%

As variações de ocorrência da arterite viral eqüina no Brasil podem sofrer influência das diferenças na movimentação ou atividade dos animais nas regiões estudadas que propiciaram condições de propagação do vírus.

Dentre os estados brasileiros investigados nota-se em comum intensa atividade eqüestre (provas, feiras e exposições) nos estudos conduzidos em São Paulo, Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Paraná que apresentaram maior prevalência de anticorpos quando comparados a outros estados nos quais a atividade eqüestre é menos intensa como no caso dos estados do Pará e Rondônia.

Verifica-se também que existem diferenças na prevalência de anticorpos em regiões dentro de um mesmo estado. LARA et al. (2003) verificaram 2,9% de animais positivos em animais da raça Puro Sangue Inglês criados na cidade de Curitiba, enquanto que na mesma região verificou-se 0% de prevalência em animais de carroceiro (LARA et al., 2006).

Nos 1.400 animais amostrados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas foram verificados 5,71% de animais soropositivos. Estes achados reforçam que em estados ou regiões com elevado trânsito, atividade eqüestre e reprodutiva dos animais há maior risco de transmissão do vírus da arterite eqüina, provavelmente por disseminação aerógena e/ou por utilização de sêmen de macho portador.

Tabela 4. Estudos de soroprevalência de anticorpos contra o vírus da arterite eqüina em diferentes países. Botucatu, SP, 2010.

Raça	Ano	Técnica	Nº Animais	Local	Autor	% positivos
Oulousky, Budeney, Westfalen, PSI	1975	Soroneutralização	140 animais importados	Japão	AKASHI, et al.	8,60%
Não informado	1979	Soroneutralização	não informado	Holanda	DE BOER, et al.	14%
Standardbred e PSI	1984	ELISA	não informado	Ontario-Canadá	LANG, G et al.	Standardbred: < 1 ano (7,3%); 2 anos: (10,2%), > 9 anos (37%). PSI: < 1 ano (4,8%); 2 anos: (4,9%), > 9 anos (20,6%).
American Troter, PSI, Crioulo e Mestiço	1984	Imunofluorescência indireta, Fixação de complemento, Soroneutralização	250	Argentina	NOSETTO, et al.	9,2%
Standardbred e PSI	1990	Soroneutralização	105 garanhões	Austrália	HUNTINGTON et al.	Standardbred: 73% PSI: 8%
Standardbred e PSI	1990	Soroneutralização	Garanhões: Standardbred: 247 PSI: 335	Nova Zelândia	MACKENZIE, J.	Standardbred: 36% PSI: 3%
Não informado	1990	Soroneutralização	739	Alemanha	KAADEN, et al.	3,80%
Não informado	1991	Soroneutralização	944	Austria	KÖLBL, et al.	10,90%
Standardbred, PSI, Quarto de Milha, Warmblood,outras	1998	Soroneutralização	4.311 animais	EUA	NAHMS, USDA	Standardbred: 23,9% PSI: 4,5%, Warmblood: 3,6%, Quarto de Milha: 0,6%
Standardbred, PSI, Quarto de Milha, Warmblood,outras	1998	Soroneutralização	4.311 animais	EUA	NAHMS, USDA	Vacinados: 23% Não vacinados: 2%
Standardbred e PSI	1999	Soroneutralização	1995: 9.203 animais 1996: 8.851 animais	Reino Unido	NEWTON, et al.	1995: 2,0% 1996: 0,52%
Não informado	2001	Soroneutralização	364 (animais residentes) 226 (animais importados)	Califórnia-EUA	HULLINGER, et al.	1,9% (residentes) 18,6% (importados)
Não informado	2003	Soroneutralização	1.774 garanhões	Argentina	GONZÁLES, et al.	0,79%
PSI	2008	Soroneutralização	307	Polônia	GOLNIK, et al.	27%

Nos países europeus a soroprevalência da arterite viral eqüina é superior à grande maioria dos estudos conduzidos no Brasil. As taxas de prevalência da arterite viral eqüina foram de: 11,3% na Suíça, 18,5% na França (BELL et al., 2006), 14% na Holanda (DE BOER et al., 1979) e 27% em cavalos Puro Sangue Inglês na Polônia (GOLNIK et al., 2008). No entanto, no Reino Unido e Estados Unidos foram observados entre 0,5 a 2,0% de animais soropositivos (NAHMS, 1998; NEWTON et al., 1999; HULLIGAN et al., 2001) que são achados similares aos encontrados no Brasil (**Tabela 4**).

Taxas equivalentes de soroprevalência observadas nos Estados Unidos, Reino Unido e na maioria nos estudos conduzidos até o momento no Brasil, podem indicar certa similaridade no manejo da atividade eqüestre dos animais que propiciaram riscos semelhantes na propagação e transmissão viral.

5.1 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS SEGUNDO LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA

No presente estudo a Mesorregião Geográfica de Campinas apresentou maior número de animais positivos (55 animais) comparativamente a Mesorregião Geográfica Macro Metropolitana Paulista (25 animais), embora quando se confronta a porcentagem de animais positivos em relação ao número total de animais amostrados as duas Mesorregiões obtiveram resultados semelhantes: Macro Metropolitana Paulista com 5,34% e a de Campinas com 5,9% (**Tabela 5**).

Tabela 5. Porcentagem de animais reagentes para a arterite viral eqüina pela técnica de soroneutralização segundo sua distribuição por Mesorregiões Geográficas. Botucatu, SP, 2010

Mesorregião Geográfica	Nº Municípios coletados	nº animais coletados	nº animais positivos	% animais positivos/ nº animais coletados por mesorregião
Campinas	28	932	55	5,90%
Macro Metropolitana Paulista	14	468	25	5,34%
Total	42	1.400	80	5,71%

Nº: número

A distribuição dos animais reagentes e não reagentes segundo a sua localização geográfica pode ser visualizada na **Tabela 6**.

Das 42 cidades coletadas, 15 apresentaram ao menos um animal positivo para arterite viral eqüina (35,7%) sendo 5 municípios pertencentes à Mesorregião Geográfica de Campinas (Jaguariúna, Santo Antônio da Posse, Socorro, Valinhos, Campinas, Sumaré) e 10 municípios pertencentes à Mesorregião Geográfica Macro Metropolitana Paulista (Bragança Paulista, Bom Jesus dos Perdões, Joanópolis, Piracaia, Atibaia, Jundiaí, Morungaba, Vargem, Nazaré Paulista). A **Figura 6** representa o mapa do Estado de São Paulo com os municípios amostrados, segundo o número e freqüência dos animais reagentes para o vírus da arterite eqüina pela técnica da soroneutralização.

As cidades que apresentaram maior ocorrência de animais positivos em relação ao número de animais amostrados foram: Sumaré (28,6%), Nazaré Paulista (25%),Vargem (14,3%), Campinas (13,8%), Morungaba (13,3%), Valinhos (12,12%), Socorro (11,76%), Jundiaí (8,3%), Atibaia (7,0%), Piracaia (6,8%), Joanópolis (6,3%), Bom Jesus dos Perdões (5,3%), Bragança Paulista (5,0%), Santo Antônio da Posse (3,6%) e Jaguariúna (1,4%). A cidade com o maior número de animais positivos para a doença foi Campinas com 44 animais positivos seguida por: Bragança Paulista (7 animais), Atibaia e Piracaia (5 animais cada), Valinhos (4 animais). As demais cidades apresentam entre 1 a 2 animais reagentes.

Tabela 6. Ocorrência de animais reagentes ao vírus da arterite eqüina pela técnica de soroneutralização agrupados segundo a sua localização geográfica. Botucatu, SP, 2010.

Cidades	Reagentes	Não Reagentes	Total	% animais positivos em relação ao total de animais coletados por cidade
Águas de Lindóia	0	6	6	0
Americana	0	21	21	0
Amparo	0	66	66	0
Artur Nogueira	0	20	20	0
Atibaia	5	66	71	7
Bom Jesus dos Perdões	1	18	19	5,3
Bragança Paulista	7	134	141	5
Campinas	44	276	320	13,8
Campo Limpo Paulista	0	16	16	0
Elias Fausto	0	2	2	0
Engenheiro Coelho	0	19	19	0
Estiva Gerbi	0	3	3	0
Holambra	0	7	7	0
Indaiatuba	0	45	45	0
Itapira	0	59	59	0
Itatiba	0	17	17	0
Itupeva	0	27	27	0
Jaguariúna	2	141	143	1,4
Jarinu	0	9	9	0
Joanópolis	1	15	16	6,3
Jundiaí	2	22	24	8,3
Lindóia	0	1	1	0
Mogi Guaçu	0	13	13	0
Mogi Mirim	0	3	3	0
Monte Alegre do Sul	0	1	1	0
Monte Mor	0	65	65	0
Morungaba	2	13	15	13,3
Nazaré Paulista	1	3	4	25
Nova Odessa	0	6	6	0
Pedra Bela	0	3	3	0
Pedreira	0	15	15	0
Pinhalzinho	0	3	3	0
Piracaia	5	68	73	6,8
Santa Bárbara d'Oeste	0	9	9	0
Santo Antônio de Posse	1	27	28	3,6
Serra Negra	0	8	8	0
Socorro	2	15	17	11,8
Sumaré	2	5	7	28,6
Tuiuti	0	29	29	0
Valinhos	4	29	33	12
Vargem	1	6	7	14,3
Vinhedo	0	9	9	0
Total	**80**	**1.320**	**1.400**	

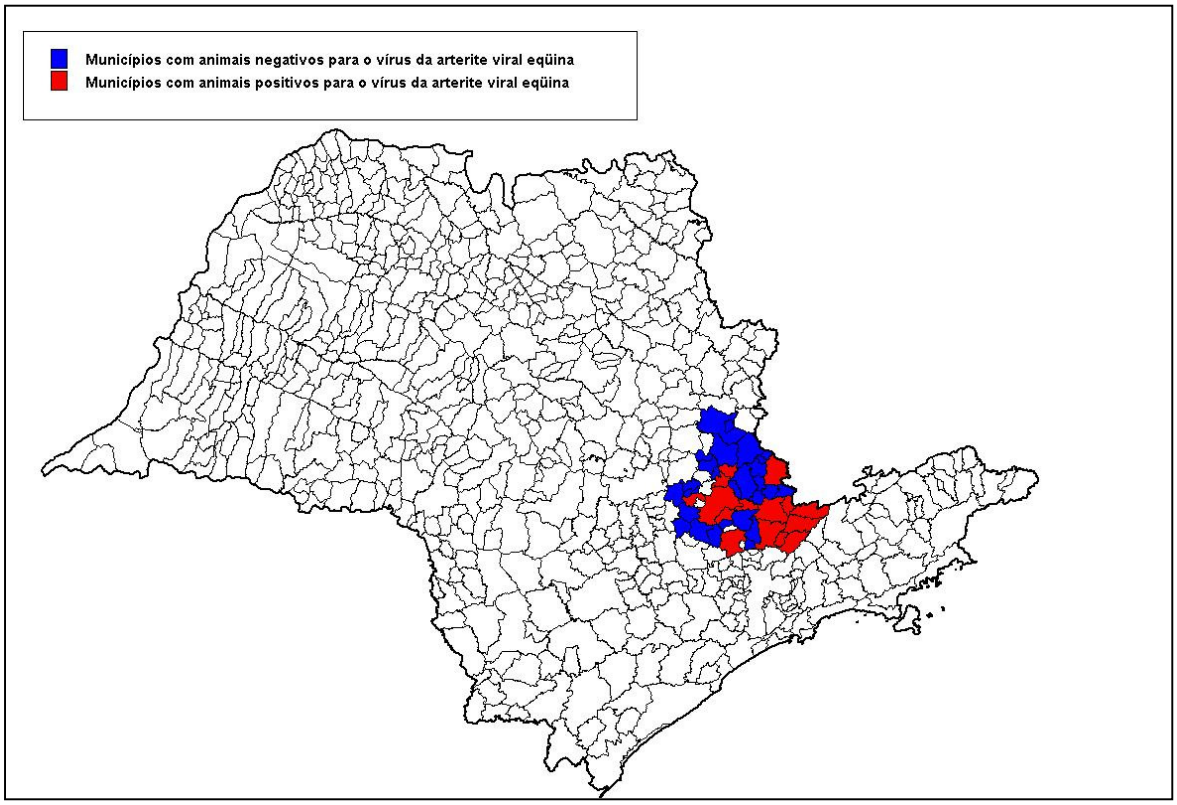

Figura 6. Mapa do estado de São Paulo representando os municípios amostrados no estudo e classificados segundo a presença ou ausência de animais positivos para o vírus da arterite eqüina pela técnica da soroneutralização. Botucatu, SP, 2010.

Dos 80 animais positivos para o vírus da arterite eqüina, 54 animais (67,5%) apresentaram título 4; 6 animais (7,5%) título 8; 1 animal (1,25%) título 16; 7 animais (8,75%) título 32; 3 animais (3,75%) título 64; 1 animal (1,25%) título 128; 2 animais (2,5%) título 256; 2 animais (2,5%) título 512; 1 animal (1,25%) título 1024; 2 animais (2,5%) título 2048 e 1 animal (1,25%) título 4096.

Das 15 cidades que apresentaram animais positivos, 14 (93,33%) possuíram animais com título 4. A cidade que apresentou maior número de animais com títulos elevados foi a cidade de Campinas possuindo um animal com título 1024, dois animais com título 2048 e um animal com título 4096.

Observa-se neste estudo que o título mais freqüente e com maior distribuição entre as cidades é o título 4. Titulações elevadas como as encontradas nos animais da cidade de Campinas indicam exposições subseqüentes ao vírus

durante a vida do animal. A distribuição dos títulos dos animais positivos segundo a sua distribuição geográfica pode ser verificado no **Anexo 1**.

Foram colhidos animais pertencentes a 238 propriedades com média de 5,8 animais por propriedade, variando de 19 animais em uma única propriedade como na cidade de Engenheiro Coelho, a um animal em propriedades das cidades de Monte Alegre do Sul e Lindóia.

Das 238 propriedades estudadas, 41 possuíram ao menos um animal positivo para o vírus da arterite eqüina. A distribuição das propriedades com animais positivos por cidade e número de animais colhidos por propriedade encontram-se na **Anexo 3**. Conforme sua localização geográfica as propriedades com animais positivos para o vírus da arterite eqüina foram assim distribuídas: Campinas com 18 propriedades; Bragança Paulista com 5 propriedades; Atibaia, Jaguariúna, Jundiaí, Sumaré e Valinhos com 2 propriedades cada e Bom Jesus dos Perdões, Joanópolis, Morungaba, Nazaré Paulista, Piracaia, Santo Antônio da Posse, Socorro e Vargem com 1 propriedade cada.

O **Anexo 4** sumariza as 41 propriedades que possuíram animais positivos para o vírus da arterite eqüina segundo a raça predominante de criação, localização geográfica e número de animais positivos por propriedade. Podemos verificar que, segundo a raça predominante de criação, as propriedades positivas foram assim distribuídas: Salto (10 propriedades), Quarto de Milha (10 propriedades), Criação mista (6 propriedades), Mangalarga (5 propriedades), Árabe (5 propriedades), Puro Sangue Inglês (3 propriedades), Crioulo (1 propriedade) e Lusitano (1 propriedade).

Embora o número de propriedades com animais positivos criadoras de animais da raça de Salto e Quarto de Milha seja o mesmo (10 propriedades), o número de animais positivos é maior em animais da raça de Salto (25 animais) quando comparados aos animais da raça Quarto de Milha (13 animais). O número de cidades com animais de raças de Salto positivos para o vírus da arterite eqüina é menor, 4 cidades (Atibaia, Campinas, Jundiaí, Morungaba) quando comparado ao número de cidades com animais positivos para a raça Quarto de Milha, 6 cidades (Atibaia, Bragança Paulista, Campinas, Socorro, Sumaré, Vargem) mas

em ambas as raças a cidade com maior número de animais positivos para o vírus da arterite eqüina foi a cidade de Campinas com 6 propriedades positivas criadoras de animais da raça de salto e 4 propriedades positivas criadoras de animais da raça Quarto de Milha.

A cidade de Campinas foi a que apresentou o maior número de propriedades positivas criadoras de diferentes raças: Salto, Quarto de Milha, Puro Sangue Inglês, Criação Mista, Árabe, Mangalarga, Lusitano e Crioulo. Bragança Paulista apresentou propriedades positivas criadoras de 3 raças diferentes: Quarto de Milha, Criação Mista, Mangalarga. As cidades que possuíram propriedades positivas criadoras de duas raças foram: Jaguariúna (Puro Sangue Inglês, Árabe), Valinhos (Criação Mista, Árabe) e Atibaia (Salto, Quarto de Milha) seguidas pelas cidades que possuíram propriedades positivas criadoras de uma raça: Jundiaí (Salto), Morungaba (Salto), Socorro (Quarto de Milha), Sumaré (Quarto de Milha), Vargem (Quarto de Milha), Bom Jesus dos Perdões (Puro Sangue Inglês), Nazaré Paulista (Criação Mista), Joanópolis (Mangalarga), Piracaia (Mangalarga) e Santo Antônio da Posse (Mangalarga).

5.2 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS SEGUNDO SEXO

Das 1.400 amostras de soro sangüíneo analisadas, 665 (47,5%) pertenciam ao sexo masculino e 735 (52,5%) ao sexo feminino. Oitenta (80) amostras de soros sangüíneos foram positivas para o vírus da arterite eqüina segundo a técnica de soroneutralização sendo assim distribuídas conforme o sexo: 40 amostras positivas pertencentes ao sexo masculino (6%) e 40 amostras positivas pertencentes ao sexo feminino (5,4%). Os resultados obtidos para ambos os sexos foram semelhantes (**Tabela 7**).

A distribuição dos títulos segundo o sexo pode ser visualizada na **Tabela 8**. Ambos os sexos apresentaram maior ocorrência de animais com título 4. Dos 40 animais positivos para o vírus da arterite do sexo feminino, 26 (65%) possuíram título 4. Resultado semelhante foi encontrado em animais do sexo masculino onde dos 40 animais positivos 28 (70%) obtiveram título 4. Um maior número de

animais do sexo feminino obtiveram títulos ≥ 512 (4 animais -10%) quando comparados aos animais do sexo masculino (2 animais – 5%)

Tabela 7. Prevalência de animais positivos para o vírus da arterite eqüina criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas agrupados segundo sexo. Botucatu, SP, 2010

	Resultados					
Sexo	Reagentes	%	Não Reagentes	%	Total	% animais positivos/ nº animais coletados por sexo
Masculino	40	2,86	625	44,64	665	6,0
Feminino	40	2,86	695	49,64	735	5,4
Total	80	5,71	1.320	94,29	1.400	

Tabela 8. Distribuição da freqüência de títulos de anticorpos para o vírus da Arterite eqüina em soros sangüíneos de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas, agrupados segundo o sexo. Botucatu, SP, 2010.

Sexo	Título											
	4	**8**	**16**	**32**	**64**	**128**	**256**	**512**	**1024**	**2048**	**4096**	**Total**
Feminino	26 (65%)	4 (10%)	1 (2,5%)	4 (10%)	0	0	1 (2,5%)	2 (5%)	1 (2,5%)	1 (2,5%)	0	40
Masculino	28 (70%)	2 (5%)	0	3 (7,5%)	3 (7,5%)	1(2,5%)	1 (2,5%)	0	0	1(2,5%)	1 (2,5%)	40
Total	54	6	1	7	3	1	2	2	1	2	1	80

Os resultados obtidos discordam com a literatura que indicam que fêmeas e animais utilizados em reprodução apresentam maior prevalência de infecção (RADOSTITS et al., 2007). LARA et al. (2002) em estudo conduzido no Estado de São Paulo verificaram maior prevalência em fêmeas (22,9%) do que em machos (12,9%). DIEL et al. (2006) no estado do Rio Grande do Sul não verificaram diferença na prevalência de anticorpos para o vírus da arterite eqüina entre machos e fêmeas. Estudo realizado nos Estados Unidos pelo Sistema Nacional de Monitoramento de Saúde Animal (NAHMS) no ano de 1998 verificou que houve maior porcentagem de fêmeas positivas (3,4%) quando comparadas à machos castrados (1,2%) mas, embora a estimativa de fêmeas positivas para anticorpos contra o vírus da arterite eqüina ter sido maior do que em machos inteiros não foi detectado diferença significativa nos índices entre ambos os sexos (NAHMS, 2000).

5.3 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS SEGUNDO RAÇA

Conforme pode ser verificado na **Tabela 9**, a raça com maior ocorrência de anticorpos para o vírus da arterite eqüina foram os animais da raça Hanoveriano com 100% seguidos pelos animais com a seguinte classificação racial: KWPN 60%, Sela Holandesa 33,3%, Holstainer e West Falen com 25%, Brasileiro de Hipismo 15%, Quarto de Milha 10%, Crioulo 6,7%, Árabe 6,7%, Sem-raça-definida ou mestiços 6,1%, Lusitano 3,5%, Mangalarga 3,4%, Campolina 2,2%, Puro Sangue Inglês 1,3% e Apaloosa, Bretão, Paint Horse e American Troter com 0% de prevalência cada pois não foram encontrados nenhum animal positivo nessas raças.

Tabela 9. Ocorrência da Arterite Viral Eqüina, determinada pela da reação de soroneutralização, em soro sangüíneo de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas, agrupados segundo a raça. Botucatu, SP, 2010.

Raça	Resultado					
	Reagentes	%	Não Reagentes	%	Total	% animais Positivos em relação ao total de animais colhidos
Hanoveriano	1	0,07	0	0,0	1	100,0
KWPN	3	0,21	2	0,1	5	60,0
Sela Holandesa	2	0,14	4	0,3	6	33,3
Holstainer	1	0,07	3	0,2	4	25,0
West Falen	1	0,07	3	0,2	4	25,0
Brasileira de Hipismo	17	1,21	96	6,9	113	15,0
Quarto de Milha	12	0,86	108	7,7	120	10,0
Árabe	13	0,86	180	12,9	193	6,7
Crioulo	1	0,07	14	1,0	15	6,7
SRD	10	0,71	155	11,1	165	6,1
Lusitano	4	0,29	110	7,9	114	3,5
Mangalarga	11	0,79	315	22,5	326	3,4
Campolina	1	0,07	44	3,1	45	2,2
PSI	3	0,21	229	16,4	232	1,3
Apaloosa	0	0,00	17	1,2	17	0,0
Bretão	0	0,00	12	0,9	12	0,0
Hessen	0	0,00	1	0,1	1	0,0
Paint Horse	0	0,00	16	1,1	16	0,0
Sela Argentina	0	0,00	5	0,4	5	0,0
Sela Francesa	0	0,00	1	0,1	1	0,0
Total	80	5,71	1320	94,29	1400	

A prevalência da arterite viral eqüina varia marcadamente entre diferentes países e entre cavalos de diferentes raças dentro de um mesmo país (DEL PIERO, 2006). Os resultados obtidos nesse trabalho revelaram maior ocorrência em animais utilizados para esportes eqüestres como cavalos utilizados para Salto (West Falen, Sela Francesa, sela Holandesa, Sela Argentina, KWPN, Holstainer, Hessen , Hanoveriano e Brasileiro de Hipismo), Quarto de Milha, Crioulo e Árabe. Estes achados coincidem com estudos similares conduzidos em diversos países que demonstram que animais nessas condições epidemiológicas estão mais predispostos à infecção (TIMONEY e McCOLLUM, 1997).

Nos Estados Unidos as infecções em animais da raça Standardbred podem chegar acima de 85% enquanto que em animais da raça Puro Sangue Inglês são menores que 5% (BALASURIYA e MACLACHLAN, 2007). Estudo conduzido nos Estados Unidos pelo Sistema Nacional de Monitoramento da Saúde Animal em animais sem histórico de vacinação contra o vírus da Arterite revelou que animais da raça Standardbred apresentaram maior porcentagem de animais soropositivos 23,9%, quando comparados com outras raças como Puro Sangue Inglês (4,5%) e Quarto de Milha (0,6%) [NAHMS, 2000]. No Reino Unido durante dois anos de estudos 0,3% de animais da raça Puro Sangue Inglês foram positivos para o vírus da arterite contra 18,5% de animais da raça Standardbred (NEWTON et al., 1999).

Na Polônia foi avaliada a influência da raça e idade no estabelecimento de animais portadores e na eliminação do vírus em 2.101 garanhões. Os autores informaram que é possível que a raça influencie no estabelecimento da infecção embora nem a idade nem a raça terem influenciado na capacidade de eliminação do vírus através do sêmen do garanhão (GOLNIK e SORDYL, 2004).

Na Autrália estudos de soroprevalência verificaram 72,5% de garanhões positivos para arterite viral eqüina em animais da raça Standardbred e 8% de garanhões positivos da raça Puro Sangue Inglês no ano de 1999. Na Nova Zelândia, no mesmo ano, 36% dos garanhões da raça Standardbred foram positivos contra 3% de garanhões positivos da raça Puro Sangue Inglês. Após a implementação de medidas sanitárias específicas para esta enfermidade as taxas

de prevalência diminuíram (HORNER e KIRKLAN, 2003).

Em contraste, no presente estudo não foram encontrados animais positivos da raça Standardbred (American Troter) embora dentre os animais amostrados da raça Puro Sangue Inglês também tenha sido observada baixa prevalência em animais dessa raça (1,3%). Resultado semelhante foi descrito por LARA et al. (2003) que analisaram a prevalência da arterite viral eqüina em animais da raça Puro Sangue Inglês na cidade de Curitiba e região metropolitana, e encontraram 2,9% dos animais reagentes.

Os resultados no presente estudo discordam dos encontrados por Lara et al. (2002) que estudaram a prevalência de anticorpos em animais criados no Estado de São Paulo e verificaram maior prevalência em animais da raça Mangalarga (33,3%), quando comparados à outras raças estudadas: Árabe (15,1%), Puro Sangue Inglês (12,1%), Quarto de Milha (8,1%) e Mestiços (5,8%). No nosso estudo a raça Mangalarga possuiu apenas 3,4% de prevalência, Árabe (6,7%), Puro Sangue Inglês (1,3%), Quarto de Milha (10%) mas foram semelhantes em animais mestiços com 6,1% de prevalência.

Os demais estudos conduzidos no Brasil por BELLO et al. (2007) no estado de Minas Gerais e por DIEL et al. (2006) no estado do Rio Grande do Sul não avaliaram a influência racial na prevalência da arterite viral eqüina. Contudo, no Rio Grande do Sul foi constatado que a maioria dos animais utilizados (88,5%) foram provenientes de animais utilizados para esporte (DIEL et al., 2006).

Não existem evidências que indiquem diferença racial na susceptibilidade à infecção e no estabelecimento de animais portadores ou fatores genéticos que confiram resistência à infecção (BALASURIYA e MACLACHLAN, 2007). Sugere-se que as condições de criação dos animais influenciam a transmissão do vírus em uma população e que a prevalência da doença em uma propriedade está relacionada à presença de animal portador ou utilização de sêmen de animal portador (BALASURIYA e MACLACHLAN, 2007).

Dentre os animais amostrados, três eqüinos positivos para o vírus da arterite eqüina classificados com sem - raça - definida são utilizados com a

finalidade de esportes hípicos e são criados em propriedades classificadas como de Salto. Este achado sinaliza que as condições de criação desses animais podem influenciar na prevalência da arterite viral eqüina nos criatórios.

A freqüência de distribuição dos títulos segundo a faixa etária pode ser verificada segundo a **Tabela 10**. A maior variedade de títulos ocorreu na raça Brasileiro de Hipismo.

Tab. 10. Distribuição da freqüência de títulos de anticorpos para o vírus da arterite eqüina em soros de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas. Botucatu, SP, 2010.

Raça	Título											
	4	**8**	**16**	**32**	**64**	**128**	**256**	**512**	**1024**	**2048**	**4096**	**Total**
Brasilero de Hipismo	8	1	0	2	0	1	1	1	1	2	0	17
Àrabe	11	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	12
Quarto de Milha	11	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	12
Mangalarga	8	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	11
SRD	8	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	10
Lusitano	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
KWPN	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	3
PSI	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Sela Holandesa	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
Hanoveriano	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Holstainer	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
West Falen	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Campolina	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Crioulo	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Outras Raças	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hessen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sela Argentina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sela Francesa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Apaloosa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bretão	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Paint Horse	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	54	6	1	7	3	1	2	2	1	2	1	80

5.4 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS SEGUNDO FAIXA ETÁRIA

Neste estudo a ocorrência de anticorpos para o vírus da arterite eqüina segundo a faixa etária dos animais obteve os seguintes resultados: 2,5% em animais com idade igual ou inferior a 6 meses de idade (1/33), 3% em animais

acima de 6 meses e igual ou inferior à 24 meses de idade (6/239), 6,4% em animais acima de 24 meses e igual ou inferior à 72 meses de idade (31/483), 6,5% em animais com acima de 72 meses e igual ou inferior a 120 meses de idade (24/365) e 6,4% de ocorrência em animais acima de 120 meses de idade (18/280). O maior número de animais positivos acima de 24 meses de idade pode ser relacionado ao fato de que animais nessa idade encontram-se em plena atividade esportiva e reprodutiva, fato que favoreceria a disseminação e manutenção do vírus nessa categoria animal. Dados podem ser visualizados na **Tabela 11**.

A freqüência de distribuição dos títulos segundo a faixa etária pode ser verificada segundo o **Anexo 2**. A maior variedade de títulos ocorreu na faixa etária acima de 24 e igual ou inferior a 72 meses de idade.

No presente estudo verificou-se maior número de animais positivos acima de 24 meses de idade bem como uma freqüência mais elevada de títulos ≥ 512 nestes animais. No presente estudo a ocorrência da infecção em animais acima de 24 meses de idade foi semelhante.

Tabela 11 . Ocorrência da infecção pelo Vírus da arterite eqüina, detectada através da reação de soroneutralização, em soros sangüíneos de cavalos criados nas regiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas, agrupados segundo a faixa etária. Botucatu, SP, 2010

Faixa etária	Resultado				
Em meses	Reagentes	%	Não Reagentes	%	Total
> 0 ≥ 6	1 (3%)	0,07	32	2,29	33
> 6 ≥ 24	6 (2,5%)	0,43	233	16,64	239
> 24 ≥ 72	31 (6,4%)	2,21	452	32,29	483
> 72 ≥ 120	24 (6,5%)	1,71	341	24,36	365
> 120	18 (6,4%)	1,29	262	18,71	280
Total	80	5,71	1320	94,29	1400

A maior ocorrência de animais positivos para o vírus da arterite eqüina em animais adultos neste estudo concorda com a literatura que demonstra o aumento da soroprevalência com o avançar da idade, indicando que cavalos podem ser repetidamente expostos ao vírus durante a sua vida (GLASER et al., 1996; BALASURIYA e MACLACHLAN, 2007). Nos Estados Unidos o Sistema Nacional

de Monitoramento Saúde Animal no ano de 1998 evidenciou maior soroprevalência da infecção em cavalos acima de cinco anos de idade (NAHMS, 2000).

Estudo conduzido por Lang e Mitchell (1984) em cavalos de corrida em Ontario encontrou as seguintes prevalências em cavalos da raça Standardbred segundo a idade: animais com menos de um ano de idade 7,3%, animais com 2 anos de idade 10,2% e acima de 9 anos de idade 37%. Em cavalos da raça Puro Sangue Inglês os seguintes resultados foram encontrados: 4,8% em potros com menos de 1 ano de idade, 4,9% em animais com dois anos de idade e 20,6% em cavalos acima de 9 anos de idade. O que demonstra o aumento da prevalência da infecção com o avançar da idade.

Golnik et al. (2008) estudaram 307 cavalos da raça Puro Sangue Inglês na Polônia e verificaram que em algumas propriedades cerca de 80-90% das fêmeas foram positivas e que nestas mesmas propriedades a prevalência em potros mais velhos e sobreanos foram menores chegando em muitos casos próximo de 0%. A porcentagem de animais sorologicamente positivos e a titulação de anticorpos neutralizantes para arterite aumentam com a idade, sugerindo que os cavalos podem ser re-infectados durante a vida.

Golnik e Sordyl (2004) estudaram a influência da idade e da raça no estabelecimento de animais portadores e na capacidade de eliminação viral através do sêmen em 2101 garanhões da Polônia . O estudo demonstrou que os índices de infecção variam em animais de diferentes faixas etárias. A maior prevalência encontrada foi em garanhões entre 21-22 anos de idade – 66,3%. O estudo demonstrou que é possível que a raça influencie na taxa de infecção dos animais mas, nem a raça nem a idade influenciaram na capacidade de eliminação do vírus através do sêmen do garanhão.

BELLO et al. (2007) em estudo conduzido no Estado de Minas Gerais verificaram que todos os animais positivos encontravam-se acima da faixa etária de 7 anos de idade.

LARA et al. (2002) verificaram diferença significativa quanto à faixa etária em estudo realizado no Estado de São Paulo onde animais entre 6 a 24 meses de

idade apresentaram a maior taxa de prevalência (30,4%) mas, o aumento gradativo da taxa de prevalência com o evoluir da idade não foi evidenciado.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Arterite viral eqüina é uma doença infecciosa que possui distribuição mundial e a sua incidência varia grandemente entre os diferentes países e entre cavalos de diferentes raças. Estudos demonstram que o número de cavalos sorologicamente positivos para o vírus da arterite eqüina aumentou substancialmente nos últimos anos indicando a circulação desse agente. A maioria das infecções são inaparentes, mas surtos ocasionais são caracterizados por uma combinação de sinais clínicos semelhantes ao vírus da influenza em animais adultos, abortamento em éguas e pneumonia intersticial em potros jovens.

As perdas ocasionadas por essa doença vão desde restrição em participação de eventos eqüestres, restrição de movimentação de animais e comercialização de sêmen até aos produtos perdidos por abortamento. Deve-se ressaltar o fato de que grande parte dos animais coletados neste trabalho são transportados e participam de eventos eqüestres o que favorece a transmissão e disseminação do vírus da arterite. Nessas ocasiões os mesmos convivem com animais de diversas origens, o que os expõe ao risco de infecção.

Foi demonstrado 5,71% de animais soropositivos sinalizando a circulação do vírus nos criatórios amostrados.

A ocorrência de anticorpos contra o vírus da arterite eqüina foi semelhante nas duas Mesorregiões estudadas: Macro Metropolitana Paulista (5,34%) e Campinas (5,9%). Das 42 cidades coletadas 15 apresentaram ao menos um animal positivo para arterite viral eqüina (35,7%), sendo 5 municípios pertencentes à Mesorregião de Campinas e 10 municípios pertencentes à Mesorregião Macro Metropolitana Paulista. A cidade com maior ocorrência de animais positivos foi a cidade de Sumaré (28,6%). A cidade de Campinas apresentou o maior número de animais positivos (44 animais), maior diversidade racial (8 raças diferentes), maior

número de propriedades positivas para o vírus (18 propriedades) e animais com titulação mais elevada.

Não foi verificada diferença na ocorrência de animais soreagentes segundo o o sexo, mostrando baixa influência deste fator epidemiológico na população estudada.

A maior freqüência de animais soropositivos foi encontrada em animais de raças utilizadas para Salto provavelmente decorrente da maior exposição ao vírus neste grupo de eqüinos devido às atividades eqüestres.

Segundo a faixa etária a maior ocorrência foi encontrada em animais acima de 24 meses de idade período no qual os animais encontram-se em plena atividade esportiva e reprodutiva fato que favoreceria a disseminação e manutenção do vírus nesta categoria animal.

Surtos recentes de arterite viral eqüina ocorridos em cavalos de esporte na Argentina (OIE, 2010) reafirmam a preocupação com a doença e a presença do vírus na América do Sul e o risco de transmissão do vírus para a população de eqüinos do Brasil, uma vez que é intenso o trânsito de animais entre os estados do sul e sudeste do país e a Argentina. Medidas zoosanitárias específicas para a arterite viral eqüina foram adotadas pelo Ministério da Agriculta, Pecuária e do Abastecimento no ano de 2008 (BRASIL, MAPA, 2008). No entanto os requisitos exigidos para a importação temporária de eqüinos com retorno à origem, ainda oferecem risco para a introdução do vírus em nosso país. Os achados do presente estudo evidenciaram a circulação do vírus nos criatórios nas Mesorregiões Paulistas estudadas e reforçam a necessidade de estudos continuados de vigilância epidemiológica com o intuito de avaliar a ocorrência da doença e reduzir o risco sanitário e o impacto econômico negativo da arterite viral para a equideocultura nacional.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; LARA, M.C.C.S.H.L.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.S.; OKUDA, L.H.; DE STEFANO, E.; NASSAR, A.F.C.; SOUZA, G.O.; VASCONCELLOS, S.A.; LABRUNA, A.B.; CAMARGO, L.M.A; GENNARI, S.M. Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterinaos em eqüídeos do município ide Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileita. *Braz.J.Vet. Anim. Sci.,* v.45, n.4, p. 269-276, 2008.
2. AKASHI, H; KONISHI, S; OGATA, M. A serological Survey of Equine Viral Arteritis in Horses Imported in 1973/74. *Jap. J. Vet. Sci*., v.38, p.71-73, 1975.
3. BALASURIYA, U.B.R.; PATTON, J.P.; ROSSITO, P.V.; TIMONEY, P.J.; McCOLLUM, W.H.; MAcLACHLAN, N.J. Neutralization determinants of laboratory strain and field isolates of equine arteritis virus: identification of four neutralization sites in the aminoterminal ectodomain of GL envelope glycoprotein. *Virology*., v.232, p.114-128, 1997.
4. BALASURIYA, U.D.N.; LEUTENEGGER, C.M.; McCOLLUM, W.H; TIMONEY, P.J.; MAcLACHLAN, N.J. Detection of equine arteritis virus by real-time TaqMan® reverse transcription-PCR assay. *Journal of Virological Methods.,* v. 101, p.21–28, 2002.
5. BALASURIYA, U. B. R.; MACLACHLAN N.J. The immune response to equine arteritis virus: potential lessons for other arteriviruses. *Veterinary immunology and immunopathology.,* v.102, p.107-129, 2004.
6. BALASURIYA, U.B.R.; MACLACHLAN, N.J. Equine viral arteritis. In: SELLON, C.D.; LONG, T.M. *Equine infectious diseases*. 1.ed. Saunders, 2007; cap.14, p.153-164.

7. BELL, S.A.; BALASURIYA, U.B.R., MAcLACHLAN, N.J. Equine Viral Arteritis. *Clin Tech Equine Pract,.* v. 5, p. 233-238, 2006.
8. BELLO, A.C.P.P.; CUNHA, A.P.; BRAZ, G.F.; LARA, M.C.C.S.H.; REIS, J.K.P.; HADDAD, J.P.H.; ROCHA, M.A.; LEITE, R.C. Frequency of equine viral arteritis in Minas Gerais State, Brazil. *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.*, v.59, n.4, p. 1077-1079, 2007.
9. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.10, de 28 de março de 2008. **Programa Nacional de Sanidade dos Equinos (PNSE).** Trânsito. Requisitos Zoosanitários para Importação Temporária de Eqüídeos de Terceiros Países aprovados pela Resolução GMC- MERCOSUL n. 21/07. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br.
10. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.16, de 02 de abril de 2008. **Programa Nacional de Sanidade dos Equinos (PNSE).** Trânsito. Requisitos Zoosanitários para Importação Definitiva ou para Reprodução de Eqüídeos de Terceiros Países aprovados pela Resolução GMC- MERCOSUL n. 19/07. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br.
11. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.33, de 28 de maio de 2008. **Programa Nacional de Sanidade dos Equinos (PNSE).** Trânsito. Requisitos Zoosanitários para Exportação de sêmen eqüinos destinado aos Estados Partes aprovados pela Resolução GMC- MERCOSUL n. 44/07. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br.
12. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.32, de 28 de maio de 2008. **Programa Nacional de Sanidade dos Equinos (PNSE).** Trânsito. Requisitos Zoosanitários para Exportação de embrião eqüino destinado aos Estados Partes aprovados pela Resolução GMC- MERCOSUL n. 42/07. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br

13. BURGER, D.; JANETT, F.; VIDAMENT, M.; STUMP, R.; FORTIER, G.; IMBODEN, I.; THUN, R. Immunization against GnRH in adult stallions: Effects on semen characteristics,behaviour and shedding of equine arteritis virus. *Animal Reproduction Science*., v. 94, p.107-111, 2006.
14. CUNHA, E.M.S.; VILLALOBOS, E.M.C.; NASSAR, A.F.C.; LARA, M.C.C.S.H.; PERES, N.F.; PALAZZO, J.P.C; SILVA, S.; DE STEFANO, E.; PINO, A.F. Prevalência de anticorpos contra agents virais em eqüídeos no sul do Estado de São Paulo. *Arq. Inst.Biol.,* v.76, n.2, p.165-171, 2009.
15. DEAN, A.G.; SULLIVAN, K.M. Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Version 2.3. 2007. Disponível em: www.OpenEpi.com, 2007.
16. DE BOER, G.F.; OSTERHAUS, A.D.; VAN OIRSHOT, J.T. Prevalence of antibodies to equine virus in the Netherlands. Tierarztl Diergeneeskd., v.104, p.65-74, 1979.
17. DEL PIERO, F. Equine Viral Arteritis. *Vet. Pathol,.* v.37, p.287-296, 2000.
18. DEL PIERO, F. Equine Viral Arteritis: Signs, Lesions, Pathogenesis and Diagnoses. In: ANNUAL MEETING THE AMERICAN SOCIETY FOR VETERINARY PATHOLOGY, 41., 2006, Tucson, Arizona. *Concurrent Annual Meetings*, 2006.
19. DIEL, D.G.; ALMEIDA, S.R.; WEIBLEN, R.; FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D.; KREUTZ, L.C.; GROFF, F.H.S.; FLORES, E.F. Prevalência de anticorpos contra o vírus da Influenza, da arterite viral e herpesvírus em eqüinos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil .*Ciência Rural.,* v.36, n.5, p. 1467-1673, 2006.
20. ECHEVERRÍA, M.G.; PECORARO, M.R.; GALOSI, C.M.; ETCHEVERRIGARAY, M.E.; NOSSETO, E.O. The first isolation of equine arteritis in Argentina. Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz., v.22, p.1029-1033, 2003.
21. ECHEVERRÍA, M.G.; DIAZ, S.; METZ, G.E.; SERENA, M.S.; PANEI, C.J.; NOSETTO, E. Genetic typing of equine arteritis virus isolates from Argentina. *Virus Genes.,* v. 35, p. 313-320, 2007.

22. EICHHORN, W.; HEILMANN, M.; KAADEN, O,R.; Equine viral arteritis with abortions: serological and virological evidence in Germany. Zentralbl Veterinarmed B., v.42, p.573-576, 1995.
23. FLORES, E.D. *Virologia Veterinária.* 1.ed. Santa Maria: UFSM, 2007. 888p.
24. FUKUNAGA, Y.; WADA, R.; IMAGAWA, H.; KANEMARU, T. Veneral Infection of mares by equine arteritis virus and use of killed vaccine against the infection. J. Comp. Path., v. 117, p. 201-208, 1997.
25. GLASER, A.L.; DE VRIES, A.A.F, ROTTIER, P.J.M.; HORZINEK, M.C.; COLENBRANDER, B. Equine Arteritis virus: A review of clinical features and management aspects. *Vet.Quart,.* v.18, n.3, p.95-99, 1996.
26. GLASER, A.L; CHIRNSIDE, E.D; HORZINEK, M.C; DE VRIES A.A. Equine Arteritis Virus. *Theriogenology.,* v. 47, p. 1275-1295, 1997.
27. GOLNIK, W.; SORDYL, B. Perecentage of Equine Arteritis Virus Infectious in stallions of various breeds. *Medycyna Weterinaryjna.,* v. 60, p. 849-852, 2004.
28. GOLNIK, W.; BAZANOW, B.; FLOREK, M.; PAWESKA, J. Prevalence of equine arteritis and West Nile Virus- specific antibodies in thoughbred horses in Poland. *In: Annales Universitatis Mariae Curie- Sklodowska.* V.XXI, n.2, p. 2008.
29. HOLYOAK, G.R.; GILES, R.C.; McCOLLUM, W.H.; LITTLE, T.V.; TIMONEY, P.J. Pathological changes associated with equine arteritis virus infection of the reproductive tract in prepubertal and peripubertal colts. J. Comp. Path., v.109, p.281-193, 1993.
30. HOLYOAK, G.R.; BALASURIYA, U.B.R.; BROADDUS, C.C.; TIMONEY, P.J. Equine viral arteritis: Current status and prevention. *Theriogenology.,* v. 70, p.403-414, 2008.
31. HORNER, G.W.; KIRKLAND, P.D. Equine Viral Arteritis. In: *Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures.,* p.1-8*,* 2003.
32. HULLINGER, P.J.; GARDBER, I.A.; HIETALA, S.K.; FERRARO, G.L.; MAcLACHLAN, N.J. Seroprevalence of antibodies against equine arteritis

virus in horses residing in the United States and imported horses. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, v.219, n.7, p. 946-949, 2001.

33. HUNTINGTON, P.J.; FORMAN, A.J.; ELLIS, P.M. The ocurrencem of equine arteritis virus in Australia. *Aust. Vet. J.,* v.67, p. 432-435, 1990.
34. LANG, G.; MITCHELL, W.R. A serosurvey by ELISA for antibodies to EAV in Ontario racehorses. *J. Equine Vet. Sc.,* v.4, p.153-157, 1984.
35. LARA, M.C.C.S.H.; FERNANDES, W.R.; TIMONEY, P.J.; BIRGEL, E.H. Prevalência de anticorpos antivírus da arterite dos equinos em cavalos criados no Estado de São Paulo. Arquivo *Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*., v.54, n. 3, 2002.
36. LARA, M.C.C.S.H.; BARROS FILHO, I.; VIANA, F.; GREGORY, L.; CUNHA, E.M.S.; CASTRO, A.F.; BIRGEL, E.H.; FERNANDES, W.R. Pesquisa de anticorpos contra o vírus da arterite dos eqüinos (VAV) e herpes eqüino tipo 1, em cavalos criados em Curitiba, PR. *A Hora Veterinária.,* v.132, p. 51-53, 2003.
37. LARA, M.C.C.S.H.; FURMAN, K.E.; BARROS FILHO, I.; VILLALOBOS, E.M.C.; CUNHA, E.M.; DECONTO, I.; BONACIM, J.; UTIME, R.A.; BIONDO, A.W. Detection of antibodies against equine viral arteritis (EVAV) and equine herpesvirus type 1 (EHV-1) in cart horses from Curitiba and surroundings, southern Brazil. *Archives of Veterinary Science.,* v. 11, n.3, p. 11-14, 2006.
38. LARSKA, M.; ROLA, J. Molecular epizootiology of equine arteritis virus isolates from Poland. *Veterinary Microbiology*., v. 127, p. 392–398, 2008.
39. LU, K.G.; MORRESEY, P.R. Infectious diseases in breeding stallions. *Clinical Techniques in Equine Practice*., v. 6, p. 285-290, 2007.
40. MAcCOLLUM, W.H.; LITTLE, T. V.; TIMONEY, P. J.; SWERCZEK, T. W. Resistance of castrated male horses to attempted establishment of the carrier state with equine arteritis virus. J. Comp. Path., v. 111, p. 383-388, 1994.

41. MAcLACHLAN, N.J.; BALASURIYA, U.B.R; DAVIS, N.L.; COLLIER, M.; JOHNSTON, R.E.; FERRARO, G.L.; GUTHRIE, A.J. Experiences with new generation vaccines against equine viral arteritis, west nile disease and African horse sickness. *Vaccine*., v. 25, p. 5577-5582, 2007.
42. McKENZIE, J. Compulsory control program for equine viral arteritis. *Surveillance*., v.17, p.19-20, 1990.
43. MURPHY, T.W.; McCOLLUM, W.H.; TIMONEY, P.J.; KLINGEBORU, B.W.; HYLLSETH, B.; GOLNIK, W.; ERASMUS, B. Genoma variability among globally distributed isolates of equine arteritis virus. *Veterinary Microbiology*., v.32, n.1, p.101-15, 1992.
44. NAHMS. Equine Viral Arteritis (EVA) and the United Stated Horse Industry. USDA: APHIS: VS, CEAH, National Animal Health Monitoring System. Fort Collins, CO, 2000.
45. NEU, S.M.; TIMONEY, P.J.; LOWRY, S.R. Changes in semen quality in the stallion following experimental infection with equine arteritis virus. *Theriogenology*., v.37, p. 407-431, 1992.
46. NEWTON, J.R.; WOOD, J.L.N.; CASTILLO-OLIVARES, J.; MUMFORD, J.A. Serological survallance of equine viral areritis in the United Kingdon since the outbreak in 1993. *The Veterinary Record*., v. 145, Issue 18, p. 511-516, 1999.
47. NOSETTO, E.O.; ETCHEVERRIGARAY, M.E.; OLIVA, G.A.; GONZÁLEZ, E.T. Arteritis viral equina: Detección de anticuerpos en equinos de la República Argentina. Zbl. Vet. Med. B., v.31, p. 526-529, 1984.
48. O. I. E. Equine viral arteritis. In: *Manual of standards for diagnostic test and vaccines for terrestrial animals*, 5.ed. Office International des Epizooties, OIE Standards Commission, Paris, 2004.
49. OIE. Equine viral arteritis, Argentina. World Animal Health Information Database, 13 maio. 2010. Online. Disponível em: http://www.oie.int/wahis/public.php?page=weekly_report_index&admin=0. Acesso em: 17 maio. 2010.

50. RADOSTITS, O.M.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D.; GAY, C.C. *Veterinary Medicine* 10. ed. Edinburgh: Sounders, p. 1319-1322, 2007.
51. REED, L.J.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hygiene.,* v. 27, p. 493-497, 1938.
52. RICHTZENHAIN, L.J. ; HEINEMANN, M.B.; CORTEZ, A.; LARA, M.C.C.S.H.; GOTTI, T.; FERREIRA, F.; HOMEM, V.S.F.; FERREIRA NETO, J.S.; SOARES, R.M.; SAKAMOTO, S.M.; CUNHA, E.M.S. Soroprevalência da anemia infeciosa equine, da arterite viral dos eqüinos e do aborto viral eqüino no município de Uruará, PA, Brasil. *Braz. J.Vet. Res. Anim. Sci.,* v.39, n.1, p.50-53, 2002.
53. SENNE, D.A.; PEARSON, J.E.; CARBEY, E.A. Equine viral arteritis: A standard procedure for the virus neutralization test and comparison of results of a proficiency test performed at five laboratories. In: *Proceedings of the US Anim. Health. Assoc*., v.89, p.29-34, 1985.
54. SNIJDER, J. E.; MEULENBERG, M.J.J. The molecular biology of arteriviruses. Journal of General Virology., V.79, P.961-979, 1998.
55. TIMONEY, P.J.; McCOLLUM, W,H. Equine viral arteritis in perspective in relation to internacional trade. *Journal of equine veterinary Science*., v.13, p. 50-51, 1991.
56. TIMONEY, P.J.; McCOLLUM, W.H. Equine viral arteritis: epidemiology and control. *J. Equine Vet. Sci.,* v.8, 54-59, 1988.
57. TIMONEY, P.J.; McCOLLUM, W.H. Equine viral arteritis: Essential facts about the disease. In: *Proceedings Annual Convention of the AAEP.* v.43 p.199-201, 1997.
58. TIMONEY, P.J.; McCOLLUM, W.H.; MURPHY, T.W. The carrier state in equine arteritis virus infection in the stallion with specific emphasis on the venereal mode of virus transmission. *J. Reprod. Fertility.,* v.35, p.95-102, 1987.
59. WOOD, J.; SMITH, K. C.; DALY, J.M.; NEWTON, J.R. 1.ed. *Equine Respiratory Medicine and Surgery.* Tract Sounders Elsevier, p. 287-326, 2007.

60. ZHANG, J.; MACLACHLAN N.J.; MEADE, B.J.; TIMONEY, P.J.; BALASURIYA, U.B.R. Amino acid substitutions in the structural or nonstructural proteins of a vaccine strain of equine arteritis virus are associated with its attenuation. *Virology.,* v. 378, p. 355-362, 2008.

Anexo 1. Distribuição da freqüência de títulos de anticorpos anti vírus da arterite eqüina em soros sangüíneos de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas agrupados segundo a sua localização geográfica. Botucatu, SP, 2010.

Regiões	Título											
	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	Total
Águas de Lindóia (6)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Americana (21)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amparo (66)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Artur Nogueira (20)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Atibaia (71)	3 (4,2%)	0	0	0	0	0	1 (1,4%)	1(1,4%)	0	0	0	5 (7%)
B. J. dos Perdões (19)	1 (5,3%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (5,3%)
Bragança Paulista(141)	6 (4,3%)	1 (0,7%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7 (5%)
Campinas (320)	26(8,13%)	3(0,94%)	0	6(1,88%)	3(0,94%)	1(0,31%)	1(0,31%)	0	1(0,31%)	2(0,63%)	1 0,31%)	44(13,8%)
C. L. Paulista (16)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Elias Fausto (2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Engenheiro Coelho (19)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Estiva Gerbi (3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Holambra (7)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Indaiatuba (45)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Itapira (59)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Itatiba (17)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Itupeva (27)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Jaguariúna (143)	1 (0,7%)	1 (0,7%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (1,4%)
Jarinu (9)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Joanópolis (16)	1 (6,3%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6,3%)
Jundiaí (24)	1 (4,16%)	0	0	1(4,16%)	0	0	0	0	0	0	0	2 (8,3%)
Lindóia (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mogi Guaçu (13)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mogi Mirim (3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Monte Alegre do Sul(1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Monte Mor (65)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Morungaba (15)	2 (13,3%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (13,3%)
Nazaré Paulista (4)	1 (25%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (25%)
Nova Odessa (6)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pedra Bela (3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pedreira (15)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pinhalzinho (3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piracaia (73)	4 (5,5%)	0	0	0	0	0	0	1(1,3%)	0	0	0	5 (6,8%)
S. B. d'Oeste (9)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. A.da Posse (28)	1(3,6%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (3,6%)
Serra Negra (8)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Socorro (17)	2 (11,8%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (11,8%)
Sumaré (7)	2 (28,6%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (28,6%)
Tuiuti (29)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Valinhos (33)	3 (9%)	1 (3%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4 (12,%)
Vargem (7)	0	0	1(14,3%)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (14,3%)
Vinhedo (9)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	**54**	**6**	**1**	**7**	**3**	**1**	**2**	**2**	**1**	**2**	**1**	**80**

Anexo 2. Distribuição da freqüência de títulos de anticorpos anti Vírus da Arterite dos Eqüina, em soro sangüíneo de cavalos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas, agrupados segundo a faixa etária. Botucatu, SP, 2010.

Faixa etária	Título											
Em meses	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	Total
> 0 ≥ 6	0	0	0	0	1(100%)	0	0	0	0	0	0	1
> 6 ≥ 24	5 (83,3%)	0	1 (16,7%)	0	0	0	0	0	0	0	0	6
> 24 ≥ 72	16 (51,6%)	3 (9,7%)	0	4 (13%)	2 (6,45%)	1(3,2%)	2 (6,45%)	1(3,2%)	0	1 (3,2%)	1 (3,2%)	31
> 72 ≥ 120	20 (83,3%)	1(4,2%)	0	2 (8,3%)	0	0	0	0	0	1(4,2%)	0	24
> 120	13 (72,2%)	2 (11%)	0	1(5,6%)	0	0	0	1 (5,6%)	1 (5,6%)	0	0	18
Total	54	6	1	7	3	1	2	2	1	2	1	80

Anexo 3 . Número de propriedades coletadas por cidade, número de animais coletados por cidade e número de propriedades por cidade com animais positivos para o vírus da arterite Eqüina. Botucatu, SP, 2010.

Cidade	Nº Propriedades coletadas por cidade	Nº Propriedades positivas por cidade	Nº Animais Coletados por cidade	nº médio de animais coletados por propriedade
Águas de Lindóia	2	0	6	3,0
Americana	2	0	21	10,5
Amparo	14	0	66	4,7
Artur Nogueira	3	0	20	6,7
Atibaia	21	2	71	3,4
Bom Jesus dos Perdões	2	1	19	9,5
Bragança Paulista	37	5	141	3,8
Campinas	26	18	320	12,3
Campo Limpo Paulista	3	0	16	5,3
Elias Fausto	1	0	2	2,0
Engenheiro Coelho	1	0	19	19,0
Estiva Gerbi	1	0	3	3,0
Holambra	2	0	7	3,5
Indaiatuba	7	0	45	6,4
Itapira	14	0	59	4,2
Itatiba	4	0	17	4,3
Itupeva	2	0	27	13,5
Jaguariúna	14	2	143	10,2
Jarinu	1	0	9	9,0
Joanópolis	4	1	16	4,0
Jundiaí	8	2	24	3,0
Lindóia	1	0	1	1,0
Mogi Guaçu	2	0	13	6,5
Mogi Mirim	2	0	3	1,5
Monte Alegre do Sul	1	0	1	1,0
Monte Mor	9	0	65	7,2
Morungaba	3	1	15	5,0
Nazaré Paulista	2	1	4	2,0
Nova Odessa	2	0	6	3,0
Pedra Bela	1	0	3	3,0
Pedreira	4	0	15	3,8
Pinhalzinho	2	0	3	1,5
Piracaia	9	1	73	8,1
Santa Bárbara d' Oeste	1	0	9	9,0
Santo Antônio da Posse	3	1	28	9,3
Serra Negra	4	0	8	2,0
Socorro	5	1	17	3,4
Sumaré	3	2	7	2,3
Tuiuti	2	0	29	14,5
Valinhos	4	2	33	8,3
Vargem	5	1	7	1,4
Vinhedo	4	0	9	2,3
Total	238	41	1.400	5,8

Anexo 4. Análise das propriedades positivas para o Vírus da arterite Eqüina com relação à raça predominante na criação, localização geográfica, número de animais positivos por propriedade e número de animais coletados por propriedade

Propriedade	Cidade	Nº Animais positivos por propriedade	Nº Animais coletados por propriedade	% Animais positivos por propriedade
Propriedade 1 (Salto)	Atibaia	3	18	16,7
Propriedade 2 (Quarto de Milha)	Atibaia	2	8	25,0
Propriedade 3 (Puro Sangue Inglês)	Bom Jesus dos Perdões	1	10	10,0
Propriedade 4 (Criação Mista)	Bragança Paulista	2	29	6,9
Propriedade 5 (Criação Mista)	Bragança Paulista	2	22	9,1
Propriedade 6 (Mangalarga)	Bragança Paulista	1	2	50,0
Propriedade 7 (Criação Mista)	Bragança Paulista	1	15	6,7
Propriedade 8 (Quarto de Milha)	Bragança Paulista	1	1	100,0
Propriedade 9 (Salto)	Campinas	1	8	12,5
Propriedade 10 (Salto)	Campinas	5	10	50,0
Propriedade 11 (Quarto de Milha)	Campinas	1	2	50,0
Propriedade 12 (Salto)	Campinas	1	15	6,7
Propriedade 13 (Quarto de Milha)	Campinas	2	4	50,0
Propriedade 14 (Crioulo)	Campinas	1	3	33,3
Propriedade 15 (Mangalarga)	Campinas	4	19	21,1
Propriedade 16 (Salto)	Campinas	8	18	44,4
Propriedade 17 (Lusitano)	Campinas	2	5	40,0
Propriedade 18 (Criação Mista)	Campinas	1	3	33,3
Propriedade 19 (Árabe)	Campinas	4	22	18,2
Propriedade 20 (Puro Sangue Inglês)	Campinas	1	30	3,3
Propriedade 21 (Salto)	Campinas	6	50	12,0
Propriedade 22 (Árabe)	Campinas	1	6	16,7
Propriedade 23 (Árabe)	Campinas	2	8	25,0
Propriedade 24 (Quarto de Milha)	Campinas	1	2	50,0
Propriedade 25 (Salto)	Campinas	2	18	11,1
Propriedade 26 (Quarto de Milha)	Campinas	1	3	33,3
Propriedade 27 (Árabe)	Jaguariúna	1	5	20,0
Propriedade 28 (Puro Sangue Inglês)	Jaguariúna	1	46	2,2
Propriedade 29 (Mangalarga)	Joanópolis	1	6	16,7
Propriedade 30 (Salto)	Jundiaí	1	6	16,7
Propriedade 31 (Salto)	Jundiaí	1	1	100,0
Propriedade 32 (Salto)	Morungaba	2	6	33,3
Propriedade 33 (Criação Mista)	Nazaré Paulista	1	2	50,0
Propriedade 34 (Mangalarga)	Piracaia	5	44	11,4
Propriedade 35 (Mangalarga)	Santo Antônio da Posse	1	11	9,1
Propriedade 36 (Quarto de Milha)	Socorro	2	6	33,3
Propriedade 37 (Quarto de Milha)	Sumaré	1	3	33,3
Propriedade 38 (Quarto de Milha)	Sumaré	1	3	33,3
Propriedade 39 (Árabe)	Valinhos	3	8	37,5
Propriedade 40 (Criação mista)	Valinhos	1	5	20,0
Propriedade 41 (Quarto de Milha)	Vargem	1	1	100,0

8. NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA CIÊNCIA RURAL

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os **artigos científicos**, **revisões** e **notas** devem ser encaminhados via eletrônica editados em idioma Português ou Inglês, todas as linhas deverão ser numeradas e paginados no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm, com no máximo, 25 linhas em espaço duplo, as margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigos científicos, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e ilustrações**. Cada figura e ilustração deverá ser enviado em arquivos separados e constituirá uma página (cada tabela também constituirá uma página). **Tabelas, gráficos e figuras não poderão estar com apresentação paisagem**.

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, quando for necessário o uso deve aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas**. (Modelo .doc, .pdf).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas**. (Modelo .doc, .pdf).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, caso existam devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas**. (Modelo .doc, .pdf).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estão disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave e resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:
JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:
GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:
COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.
TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:
O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers) conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests ***Tribolium confusum*** (Coleoptera: Tenebrionidae), ***Tenebrio molitor*** (Coleoptera: Tenebrionidae), ***Sitophilus granarius*** (Coleoptera: Curculionidae) and ***Plodia interpunctella*** (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de ***Sitophilus oryzae*** (L.), ***Cryptolestes ferrugineus*** (Stephens) e ***Oryzaephilus surinamensis*** (L.)

a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural** , Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, nov. 2008 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:
RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese,dissertação:
COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas caracterísitcas digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:
ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:
Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:
MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Artroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: http://www.zh.com.br/especial/index.htm

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: http://www. Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadros. As figuras devem ser enviadas à parte, cada uma sendo considerada uma página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 800 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda. Também devem apresentar a seguinte formatação que se encontra nesse exemplo.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderão ser utilizados.

13. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

Trabalho a ser enviado para a revista Ciência Rural

Soroprevalência da arterite viral eqüina em Mesorregiões Paulistas entre 2007 e 2008

Seroprevalence of equine viral arteritis in Paulista Mesoregions between 2007 and 2008

Pollyana Rennó Campos Braga[1], Maria do Carmo Custódio de Souza Hunold Lara [II], Adriano Dias [III], Elenice Maria Sequetin Cunha [IV], Eliana Monteforte Cassaro Villalobos [V], Márcio Garcia Ribeiro[VI], Alexandre Secorun Borges [VII]

RESUMO

O presente estudo investigou a ocorrência de anticorpos contra o vírus da arterite dos eqüinos, utilizando a técnica de soroneutralização viral em 1.400 equinos criados nas Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e Campinas do estado de São Paulo (SP), entre 2007 e 2008. Do total das amostras, 80 (5,71%) apresentaram anticorpos para o vírus (títulos entre 4 e 4096). Dentre os 42 municípios amostrados, 15 (35,7%) apresentaram pelo menos um animal sororeagente. Foram analisadas 238 propriedades das quais 41 apresentaram ao menos um animal sororeagente. A ocorrência de animais reagentes foi maior em cavalos destinados ao esporte, particularmente das raças de Salto e Quarto de Milha e foi semelhante entre machos e fêmeas. A ocorrência também foi maior em animais acima de 24 meses de idade. Os resultados obtidos sugerem a circulação do vírus nos criatórios amostrados.

Palavras- chave: arterite viral eqüina, sorodiagnóstico, cavalo, Brasil

[I] Universidade Estadual Paulista (UNESP), 18.618-970, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: pollyrcb@yahoo.com.br. Autor para correspondência. [II] Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil. [III] Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

ABSTRACT

This study investigated the occurrence of arteritis virus antibodies using virus neutralization test in 1,400 horses from Campinas and Macro Metropolitan Paulista Mesoregions located at Sao Paulo State, between 2007 and 2008. 80 samples (5.71%) showed antibodies to equine arteritis virus (titers from 4 to 4096). Among the 42 cities, 15 (35.7%) presented at least one positive animal to equine arteritis virus. 238 farms were studied and 41 showed at least one soropositive animal. Occurrence was higher in sport horses like Jumping Horses**,** Quarter Horses and was similar for females and males. The seropositive ocurrence was higher in animals between 24 to 72 months of age. These results suggest the circulation of virus among horse population in studied farms.

Key words: ocurrence, equine arteritis virus, antibodies, horse, Brazil

A arterite viral eqüina é reconhecida como doença infecciosa caracterizada por abortamento em fêmeas entre o 3º e o 10º mês de gestação, e o estabelecimento de machos portadores, que são considerados responsáveis pela manutenção do vírus nos criatórios (BALASURIYA & MAcLACHLAN, 2007).

A soroprevalência da doença foi estimada em 11,3% na Suíça, 18,5% na França e 2,3% na Inglaterra. Estudo na Holanda entre 1963 e 1975 revelou 14% de cavalos soropositivos. Na Alemanha 1,8% e 20% dos cavalos foram positivos, respectivamente em estudos realizados em 1987 e 1994. Na Polônia, 27% animais soropositivos foram encontrados na raça Puro Sangue Inglês (HOLYOAK et al., 2008). Recentemente oito surtos de arterite viral eqüina foram descritos na Argentina envolvendo 196 eqüinos (OIE, 2010).

No Brasil foi descrita soroprevalência de 18,2% no estado de São Paulo (LARA et al., 2002), 2,9% na cidade de Curitiba (LARA et al., 2003), 2,2% no estado do Rio Grande do Sul (DIEL et al., 2006) e 0,85% no estado de Minas Gerais (BELLO et al., 2007). Em contraste HEINEMANN et al. (2002) no município de Uruará no Pará, LARA et al. (2006) em cavalos de carroceiro da cidade e região Metropolitana de Curitiba, AGUIAR et al. (2008) no município de Monte Negro, Rondônia, e CUNHA et al. (2009) em 16 municípios do sul do Estado de São Paulo, não revelaram animais soropositivos para a doença. Até o momento nenhum surto da doença foi identificado no país.

A prevalência da doença pode ser influenciada por fatores como idade, raça e utilização dos animais (BALASURIYA & MAcLACHLAN, 2007). Títulos de anticorpos são maiores em fêmeas e em cavalos utilizados para reprodução e, as maiores taxas de infecção em animais mais velhos indicam que os cavalos podem ser repetidamente expostos ao vírus com o passar dos anos (BALASURIYA & MAcLACHLAN, 2007).

Considerando a relevância da equideocultura no estado de São Paulo, a presença de diferentes criatórios de elite no estado e o reduzido número de estudos sobre a doença, o presente estudo investigou a ocorrência de anticorpos para a arterite viral em 1.400 eqüinos das Mesorregiões Macro Metropolitana Paulista e de Campinas.

O cálculo amostral foi baseado nos dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) do ano de 2005, no qual o estado de São Paulo é subdividido em 15 Mesorregiões Geográficas contendo 63 Microrregiões. Foram colhidas amostras de soros sangüíneos de eqüinos criados em cinco Microrregiões Geográficas (Bragança Paulista, Jundiaí, Amparo, Campinas, Mogi Mirim), pertencentes às Mesorregiões de

Campinas e Macro Metropolitana Paulista, incluindo 238 propriedades em 42 municípios.

O número de amostras foi calculado frente a uma população estimada de 47.356 eqüinos. A prevalência da doença foi estimada em 6% (+-2%), considerando como 2 o efeito de delineamento pelas dificuldades na amostragem sistemática, resultando na avaliação de no mínimo, 1.069 animais, com o intuito de obter intervalo de confiança de 95%. A título de confiabilidade dos resultados foram avaliados no presente estudo 1.400 animais.

As amostras de sangue foram colhidas de eqüinos sem histórico anterior de vacinação contra o vírus da arterite, no período compreendido entre janeiro de 2007 e dezembro de 2008. Para a obtenção de soro sangüíneo foram colhidas amostras de 10 mL de sangue através da punção da veia jugular externa utilizando-se sistema Vacutainer^{R}. Após a colheita, as amostras de soro sangüíneo foram separadas e transferidas para tubos plásticos, identificados e congelados à temperatura de -20°C, até a realização da soroneutralização. As amostras foram processadas no Laboratório de Raiva e Encefalites do Instituto Biológico de São Paulo.

Para a pesquisa de anticorpos contra os vírus da arterite eqüina foi utilizada a técnica de

soroneutralização em microplacas. Os soros foram testados em diluições na base 2 frente a 100 $DICT_{50}$/25µl de suspensão de vírus da arterite eqüina (amostra Bucyrus). Após a incubação por 1 hora, a 37ºC, foram adicionados 100 µl de suspensão de células RK-13, contendo 300.000 células/ml. A leitura foi realizada após 72 horas de incubação em estufa com 5% de CO_2, a 37ºC, observando a neutralização do efeito citopático (LARA et al., 2002; LARA et al., 2003). Foram considerados reagentes os soros com título ≥ 4, conforme recomendação da Organização Mundial de Sanidade Animal.

Das 1.400 amostras de soro sangüíneo analisadas pela técnica de soroneutralização, 80 (5,71%) apresentaram anticorpos contra o vírus da arterite dos eqüinos.

Dentre os 42 municípios, 15 apresentaram ao menos um animal positivo para arterite viral eqüina (35,7%) sendo cinco municípios pertencentes à Mesorregião Geográfica de Campinas (Jaguariúna, Santo Antônio da Posse, Socorro, Valinhos, Campinas, Sumaré) e 10 municípios pertencentes à Mesorregião Geográfica Macro Metropolitana Paulista (Bragança Paulista, Bom Jesus dos Perdões, Joanópolis, Piracaia, Atibaia, Jundiaí, Morungaba, Vargem, Nazaré Paulista). As cinco cidades que apresentaram maior ocorrência de animais positivos foram: Sumaré (28,6%), Nazaré Paulista (25%), Vargem (14,3%), Campinas (13,8%) e Morungaba (13,3%). Das 238 propriedades estudadas, 41 possuíram ao menos um animal positivo, das quais Campinas (18 propriedades) e Bragança Paulista (5 propriedades) foram os municípios com maior número de animais reagentes.

Foram colhidas 665 amostras (47,5%) pertencentes ao sexo masculino e 735 amostras (52,5%) pertencentes ao sexo feminino. Das 80 amostras positivas para o vírus da arterite, 40 foram do sexo masculino (6%) e 40 do sexo feminino (5,4%).

Foi constatada maior ocorrência de anticorpos para o vírus da arterite dos eqüinos em animais utilizados para salto (17,9%) seguido por animais das raças: Quarto de Milha (10%), Crioulo (6,7%), Árabe (6,7%), Sem-raça-definida (6,1%), Lusitano (3,5%), Mangalarga (3,4%), Campolina (2,2%), Puro Sangue Inglês (1,3%) e Apaloosa, Bretão, Paint Horse e American Troter foram raças que não apresentaram animais positivos.

A presença de animais positivos para o vírus da arterite dos eqüinos foi observada em 2,5% entre eqüinos de 0 a 6 meses, 3% dentre 6 a 24 meses, 6,4% entre 24 a 72 meses , 6,5% para 72 a 120 meses e 6,4% acima de 120 meses.

A ocorrência de anticorpos nos animais amostrados foi menor que a encontrada por LARA et al. (2002), que evidenciaram 18,2% de cavalos positivos no estado de São Paulo. No entanto, a soroprevalência encontrada no presente estudo foi superior a todos os outros estudos similares conduzidos em eqüinos no Brasil (HEINEMANN et al., 2002; LARA et al., 2003; DIEL et al., 2006; LARA et al., 2006; BELLO et al., 2007; AGUIAR et al., 2008; CUNHA et al., 2009). De maneira similar ao presente estudo, todos os estados brasileiros investigados para a doença até o momento que possuem maior aglomeração de animais e intensa atividade eqüestre, apresentaram maior freqüência de anticorpos para o vírus da arterite (LARA et al., 2002, LARA et al., 2003; DIEL et al., 2006). A presença de maiores taxas de animais soropositivos poderia ser creditada ao favorecimento da transmissão do vírus em regiões ou estados que possuem alta atividade eqüestre e de reprodução. A influência das condições de criação dos animais na ocorrência da infecção também foram evidenciadas em dois estudos conduzidos em Curitiba e região metropolitana nos quais LARA et al. (2003) verificaram 2,9% de animais positivos em animais da raça Puro Sangue Inglês e ausência de animais reagentes utilizados como tração de carroças (LARA et al., 2006).

O número de animais positivos na Mesorregião Geográfica de Campinas (55 animais- 5,9%) foi maior que a Mesorregião Geográfica Macro Metropolitana Paulista (25 animais- 5,34%), apesar da similaridade entre o percentual de soropositivos.

No presente estudo foi observada ocorrência similar de anticorpos para o vírus da arterite dos eqüinos machos ou fêmeas, não caracterizando a influência do sexo dos animais na ocorrência da doença. Ao contrário, BALASURIYA & MAcLACHLAN

(2007) apontaram maior prevalência da doença em fêmeas e em cavalos utilizados para reprodução.

Nos animais amostrados foi observada maior ocorrência da doença em animais utilizados para esportes eqüestres. Este achado concorda com estudos similares conduzidos em outros países que também demonstram maior predisposição à infecção nessas categorias, (BALASURIYA & MAcLACHLAN, 2007). No entanto, distoam de investigações prévias realizadas no Brasil que apontaram maior prevalência de animais positivos da raça Mangalarga (33,3%) no estado de São Paulo (LARA et al., 2002).

No presente estudo foi identificada maior ocorrência de animais positivos para a doença em eqüinos acima de 24 meses. Este achado concorda com estudos similares que referem o aumento da soroprevalência com o avançar da idade, provavelmente pelo maior risco de exposição ao vírus em animais adultos, em plena atividade reprodutiva ou ligada ao uso em esportes eqüestres, treinamentos ou tração (BALASURIYA e MACLACHLAN, 2007).

Surtos recentes de arterite viral eqüina ocorridos em cavalos de esporte na Argentina (OIE, 2010) reafirmam a preocupação com a doença e a presença do vírus na América do Sul e o risco de transmissão do vírus para a população de eqüinos do Brasil, uma vez que é intenso o trânsito de animais entre os estados do sul e sudeste do país e a Argentina. Medidas zoosanitárias específicas para a arterite viral eqüina foram adotadas pelo Ministério da Agriculta, Pecuária e do Abastecimento no ano de 2008 (MAPA, 2008). No entanto os requisitos exigidos para a importação temporária de eqüinos com retorno à origem, ainda oferecem risco para a introdução do vírus em nosso país. Os achados do presente estudo evidenciaram a circulação do vírus nos criatórios nas Mesorregiões Paulistas estudadas e reforçam a necessidade de estudos continuados de vigilância epidemiológica com o intuito de avaliar a ocorrência da doença e reduzir o

risco sanitário e o impacto econômico negativo da arterite viral para a equideocultura nacional.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D.M. et al. 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.***v.45, n.4, p. 269-276, 2008. Disponível em: http://www.fumvet.com.br/novo/revista/45/n4/269-276.pdf.
- BALASURIYA, U.B.R.; MACLACHLAN, N.J. Equine viral arteritis. In: SELLON, C.D.; LONG, T.M. ***Equine infectious diseases***. 1.ed. Saunders, 2007; cap.14, p.153-164.
- BELLO, A.C.P.P. et al. Frequency of equine viral arteritis in Minas Gerais State, Brazil. ***Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec***., v.59, n.4, p. 1077-1079, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352007000400039&lng=pt&nrm=iso&tlng=en.
- CUNHA, E.M.S. et al. Prevalência de anticorpos contra agentes virais em eqüídeos no sul do Estado de São Paulo. ***Arq. Inst.Biol***. v.76, n.2, p.165-171, 2009. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v76_2/cunha2.pdf.
- DIEL, D.G. et al. Prevalência de anticorpos contra o vírus da Influenza, da arterite viral e herpesvírus em eqüinos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. ***Ciência Rural***, v.36, n.5, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782006000500019.
- HEINEMANN, M.B. et al. Soroprevalência da anemia infecciosa equina, da arterite viral dos eqüinos e do aborto viral eqüino no município de Uruará, PA, Brasil. ***Braz. J.Vet. Res.Anim. Sci***. v.39, n.1, p.50-53, 2002. Disponíevl em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-95962002000100009&script=sci_arttext
- HOLYOAK, G.R. et al. Equine viral arteritis: Current status and prevention. ***Theriogenology***. v. 70, p.403-414, 2008.
- LARA, M.C.C.S.H. et al. Prevalência de anticorpos antivírus da arterite dos eqüinos em cavalos criados no Estado de São Paulo. ***Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia***. v.54, n.3, 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352002000300001&script=sci_arttext.
- LARA, M.C.C.S.H. et al. Pesquisa de anticorpos contra o vírus da arterite dos eqüinos (VAV) e herpes eqüino tipo 1, em cavalos criados em Curitiba, PR. ***A Hora Veterinária***, v.132, p. 51-53, 2003.
- LARA, M.C.C.S.H. et al. Detection of antibodies against equine viral arteritis (EVAV) and equine herpesvirus type 1 (EHV-1) in cart horses from Curitiba and surroundings, southern Brazil. ***Archives of Veterinary Science***. v.11, n.3, p.11-14, 2006. Disponível em: >http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/veterinary/article/viewFile/7419/5316
- MAPA. **Programa Nacional de Sanidade dos Equinos (PNSE).** Trânsito, 28 março. 2008. Acessado em 17 maio. 2010. Online. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br.
- OIE. Equine viral arteritis, Argentina**. World Animal Health Information Database**, 13 maio. 2010. Acessado em 17 maio. 2010. Online. Disponível em: http://www.oie.int/wahis/ public.php?page=weekly_report_index&admin=0

- OIE. Equine viral arterites. **Terrestrial Manual**. Cap.5.5.10, p. 904-918,2008.