

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

Cláudia Fideles Resende

Modelo para controle da anemia infecciosa equina na região Amazônica

Belo Horizonte – MG

2021

Cláudia Fideles Resende

Modelo para controle da anemia infecciosa equina na região Amazônica

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal, na área de concentração Medicina Veterinária Preventiva.

Orientador: Prof. Jenner Karlisson Pimenta dos Reis

Coorientadores: Prof. Romulo Cerqueira Leite
Profa. Érica Azevedo Costa

Belo Horizonte – MG

2021

R433m Resende, Cláudia Fideles, 1991 -
Modelo para controle da anemia infecciosa equina na região Amazônica/ Cláudia Fideles
Resende. -2021.
78 f.:il

Orientador: Jenner Karlisson Pimenta dos Reis

Coorientadores: Romulo Cerqueira Leite

Érica Azevedo Costa.

Tese (Doutorado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Doutora.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva.

Bibliografias: f. 69 a 77.

1. Equino - Doenças - Teses - 2. Ciência animal - Teses - 3. Anemia infecciosa equina - Teses - I. Reis, Jenner Karlisson Pimenta dos - II. Leite, Romulo Cerqueira - III. Costa, Érica Azevedo - IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - V. Título.

CDD - 636.089 69

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes - CRB2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

CLÁUDIA FIDELES RESENDE

Tese submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva.

Aprovada em 25 de junho de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Jenner Karlisson Pimenta dos Reis
Presidente – Orientador(a)

Dr.(a). Erica Azevedo Costa

Dr.(a). Romulo Cerqueira Leite

Dr.(a). Cairo Henrique Sousa de oliveira

Dr.(a). Maria Isabel Maldonado Coelho Guedes

Dr.(a). João Paulo Amaral Haddad

Dr.(a). Amauri Alcindo Alfieri



Documento assinado eletronicamente por **Jenner Karlisson Pimenta dos Reis, Presidente de comissão**, em 25/06/2021, às 16:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Romulo Cerqueira Leite, Usuário Externo**, em 25/06/2021, às 16:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Isabel Maldonado Coelho Guedes, Professora do Magistério Superior**, em 25/06/2021, às 16:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Paulo Amaral Haddad, Professor do Magistério Superior**, em 25/06/2021, às 18:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Erica Azevedo Costa, Professora do Magistério Superior**, em 26/06/2021, às 08:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cairo Henrique Sousa de Oliveira, Usuário Externo**, em 30/06/2021, às 16:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Amauri Alcindo Alfieri, Usuário Externo**, em 06/07/2021, às 09:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0797848** e o código CRC **022B00B0**.

Agradecimentos

Agradeço imensamente ao Prof. Jenner Karlisson Pimenta dos Reis e ao Prof. Romulo Cerqueira Leite, por quem tenho grande carinho e admiração. Obrigada pela oportunidade, confiança, conselhos e puxões de orelha que tanto contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.

Aos colegas de trabalho e grandes amigos que a pós me deu de presente: Francielli Souto, Rebeca Falcão, Raphael Mattoso, Bruna Bueno, Juliana Bicalho, Breno Souza, Gabriel Lopes, Emília Delarmelina, Thiago Arcebispo, Telissa Kassar e Gustavo Barony. Obrigada por todo apoio e companheirismo, seja na bancada, no campo, na escrita ou na vida. Agradecimento especial ao Rapha, por ter me acompanhado e ajudado tanto nessa grande aventura que foi a nossa ida ao Marajó, e também à Fran e a Beca, por estarem sempre ao meu lado. Vocês são demais! Muito obrigada a todos pelo prazer da convivência, gargalhadas, carinho e amizade, ao lado de vocês tudo ficou mais leve e divertido, minha eterna família Retrolabiridae!

Ao prof. Rafael Romero Nicolino e ao Thiago Arcebispo pela ajuda (e que ajuda!) com a realização da análise estatística e interpretação dos dados.

Agradeço ao prof. André Guimarães Maciel e Silva e ao Alison Miranda Santos, da UFPA, responsável por toda a parte do projeto que foi desenvolvida na Ilha de Marajó e aos alunos Gilberto Gonçalves e Juliana Lima, pela ajuda nas coletas. Agradeço também ao proprietário e a todos os funcionários da fazenda onde o estudo foi conduzido, que tornaram possível a realização deste projeto.

Aos meus pais (Cláudio e Eleir) e meus irmãos (Luciana e Eduardo) pela lealdade, apoio incondicional e por sempre torcerem pelo meu sucesso. À minha amada sobrinha/afilhada Antonella, que ilumina os meus dias. Ao Higor, meu amor, meu companheiro, meu porto seguro. Vocês são meu alicerce!

Aos meus queridos amigos da vida, Marina, Bruno, Debinha, Bianca e Fernanda, obrigada por fazerem parte da minha trajetória, vocês são os melhores! Agradecimento especial à Marina, pela revisão da tese.

Ao INCT-Pecuária, CNPq, Capes e Fapemig pelo apoio financeiro, e à Escola de Veterinária da UFMG pelo programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

Muito obrigada a todos que direta ou indiretamente fizeram parte desta conquista.

Resumo

Na Ilha de Marajó (Pará), encontram-se os cavalos das raças Marajoara e Puruca, originados na região e adaptados às adversidades climáticas do bioma amazônico, bem como outras raças introduzidas e mestiços, muitos dos quais vivem em condições ferais. Estima-se que aproximadamente 40% dos equídeos da Ilha sejam soropositivos para a anemia infecciosa equina (AIE), provocada pelo *Equine infectious anemia virus* (EIAV). Com a ausência de tratamento e vacinas eficazes, o controle da doença se dá pela quebra do ciclo de transmissão, que ocorre por via horizontal, através de fômites ou pela picada de insetos hematófagos. Há indícios de que os potros sejam mais resistentes à infecção pelo EIAV, mesmo em regiões com alta densidade de vetores, como na Amazônia Brasileira. Dessa forma, o presente trabalho teve dois objetivos: (1) estabelecer uma metodologia de controle da AIE em uma propriedade representativa da Ilha de Marajó, localizada no município de Soure, através da associação de testes diagnósticos (IDGA e ELISAp_{gp45}) e segregação dos soropositivos; e (2) determinar a transmissibilidade do EIAV para potros nascidos e mantidos com éguas ferais soropositivas até o desmame natural. Foi observada uma queda significativa na prevalência da AIE no rebanho, que foi reduzida de 27,09% para 0,36% ao final de dois anos do estudo, enquanto os potros apresentaram baixa taxa de infecção, apenas 7,14% do grupo tornou-se soropositivo no período avaliado. Os resultados obtidos mostram que é possível controlar a disseminação da AIE em áreas de alta prevalência através de monitoramento periódico e segregação dos positivos, assim como obter potros negativos nascidos de éguas positivas mesmo após desmame em condições naturais em uma região com alta densidade de vetores.

Palavras-chave: EIAV, controle, transmissão para potros, equídeos ferais, Amazônia

Abstract

The Marajoara and Puruca horses live in the Marajó Island (Pará), originated in the region and adapted to the climatic adversities of the Amazon biome, as well as other introduced and crossbred breeds, many of which are raised in feral conditions. It is estimated that roughly 40% of the equids on the island are seropositive for equine infectious anemia (EIA), caused by the *Equine infectious anemia virus* (EIAV). Due to absence of effective treatment and vaccines, the control of EIA occurs by breaking the transmission cycle, which occurs horizontally, iatrogenic or by hematophagous insects. There is evidence that foals are more resistant to EIAV infection, even in regions with high vector density, such as the Brazilian Amazon. Therefore, the aims of this study were: (1) to establish an EIA control methodology in a representative property of the Marajó Island, in Soure municipality, through the association of diagnostic tests (AGID and ELISApp45) and segregation of seropositive equids; and (2) determine the transmissibility of the EIAV to foals borned and maintained with seropositive feral mares until natural weaning. It was observed a significant prevalence decrease of EIA within herd, that reduced from 27.09% to 0.36% at the end of two years of the study, while the foals had a low infection rate, only 7.14% of the group became seropositive in the evaluated period. The results obtained show that it is possible to control the spread of EIA in areas with high prevalence through periodic monitoring and segregation of positives, as well as obtaining negative foals born from positive mares even after weaning under natural conditions in a region with high density of vectors.

Keywords: EIAV, control, transmission to foals, feral horses, Amazon

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Mapa da Ilha de Marajó (Pará) e seus municípios.....	16
Figura 2. Cavalos das raças Marajoara (esquerda) e Puruca (direita).....	22
Figura 3. Estrutura e genoma do EIAV.....	24
Figura 4. Perfil da evolução da infecção após inoculação experimental em cavalo com estirpe patogênica do EIAV.....	26

CAPÍTULO 2

Figura 1. Representação esquemática da data e intervalos de tempos entre as cinco coletas realizadas durante o período experimental de dois anos.....	43
Figura 2. Localização geográfica do município de Soure (azul).....	44
Figura 3. Estrutura etária do rebanho (n=388) em janeiro/2018.....	48
Figura 4. Composição do rebanho, incluindo apenas animais ≥ 7 meses de idade (n=358), em janeiro/2018, em relação a raça/espécie (A), sexo (B) e tipo de manejo (C).....	49
Figura 5. Caracterização dos positivos (n=97) em janeiro/2018 em relação a raça/espécie (A), faixa etária (B), sexo (C) e tipo de manejo (D).....	49
Figura 6. Prevalência da AIE na propriedade durante o período de estudo.....	51

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Quantidade de bovinos, bubalinos e equinos nos 4 municípios que contêm os maiores efetivos da Ilha de Marajó.....	19
Tabela 2. Número de casos e focos de AIE em equinos, por unidade federativa, notificados ao MAPA entre 1999 e 2019.....	32
Tabela 3. Testes disponíveis para o diagnóstico da AIE e a aplicação recomendada.....	34
Tabela 4. Sequências de genoma completo do EIAV disponíveis.....	37

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Variáveis utilizadas na análise estatística.....	47
Tabela 2. Resultado obtido na análise de regressão logística multivariada considerando as variáveis que apresentaram associação estatisticamente significativa em relação ao risco de infecção pelo EIAV.....	50
Tabela 3. Detalhamento da quantidade de amostras coletadas na 2 ^a a 5 ^a coleta.....	51

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Idade, raça, data das coletas e resultados dos potros avaliados para AIE.....	61
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ADAR 1 – adenosinas desaminases 1

AIE – anemia infecciosa equina

APHIS – *Animal and Plant Health Inspection Service*

BAGAM - Banco de germoplasma animal da amazônia oriental

BLV – *Bovine leukemia virus*

CAIEPAN – Programa de controle e prevenção da AIE no Pantanal sul-mato-grossense

CEUA – Comissão de ética no uso de animais

CRAIE – *Centro di Referenza Nazionale per l'Anemia Infettiva degli Equini*

Crml – *Chromosomal Maintenance 1*

CTL – linfócitos T citotóxicos

DNA – ácido desoxirribonucleico

DPI – dias pós-infecção

dTTP – desoxitimidina trifosfato

dUTP – desoxiuridina trifosfato

EIAV – *Equine infectious anemia virus*

ELISAppg45 – ensaio imunoenzimático com peptídeo gp45

ELR-1 – *equine lentivirus receptor-1*

EUA – Estados Unidos da América

FIV – *Feline immunodeficiency virus*

HIV – *Human immunodeficiency virus*

HTLV-1 – *Human T-cell leukemia virus type-1*

IDGA – imunodifusão em gel de ágar

IgG – imunoglobulina G

IgM – imunoglobulina M

IN – instrução normativa

IZS – *Istituti Zooprofilattici Sperimentali*

LTR – *long terminal repeats*

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MDM – macrófago derivado de monócito

MMTV – *Mouse mammary tumor virus*

mRNA – RNA mensageiro

NAbs – anticorpos neutralizantes

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal

OPD – *o-phenylenediamine*

ORF – *open reading frames*

PCR – reação em cadeia da polimerase
PBS – *phosphate buffered saline*
PND – *principal neutralizing domain*
PIB – produto interno bruto
RNA – ácido ribonucleico
RT – *reverse transcriptase*
SRLV – *Small ruminant lentiviruses*
SPI – semanas pós-infecção
T.A. – temperatura ambiente
TNF – fator de necrose tumoral
USDA – *United States Department of Agriculture*
UTR – *untranslated regions*
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. CAPÍTULO 1. Revisão de literatura	16
2.1. Ilha de Marajó	16
2.1.1. Economia	18
2.1.2. Origem do cavalo Marajoara	19
2.1.3. Origem do cavalo Puruca	19
2.1.4. Descaracterização das raças	20
2.1.5. Características e importância dos cavalos	21
2.2. Anemia infecciosa equina (AIE)	23
2.2.1. Partícula viral e genoma	23
2.2.2. Tropismo viral	24
2.2.3. Sinais clínicos	25
2.2.4. Resposta imunológica do hospedeiro	27
2.2.5. Transmissão	29
2.2.6. Epidemiologia	32
2.2.7. Diagnóstico	33
2.2.8. Controle da AIE no Brasil	37
2.2.9. Controle da AIE em outros países	38
3. CAPÍTULO 2. Proposta para controle da AIE em uma propriedade na Ilha de Marajó ..	41
3.1. Introdução	41
3.2. Material e métodos	43
3.2.1. Coleta de amostras	43
3.2.2. Área de estudo	44
3.2.3. Caracterização do grupo de estudo	44
3.2.4. Identificação dos animais	45
3.2.5. Diagnóstico sorológico	45
3.2.6. Segregação e monitoramento	46
3.2.7. Manejo	47
3.2.8. Análise estatística	47
3.3. Resultados	48
3.4. Discussão	52
3.5. Conclusão	55

4. CAPÍTULO 3: Baixa taxa de transmissão do EIAV para potros nascidos de éguas ferais soropositivas na Amazonia Brasileira, apesar das condições climáticas favoráveis a grandes populações de insetos vetores.....	56
4.1. Introdução	56
4.2. Material e métodos.....	58
4.2.1. Área do estudo	58
4.2.2. Coleta das amostras	59
4.2.3. Ensaio sorológicos	59
4.3. Resultados.....	60
4.4. Discussão	62
4.5. Conclusão.....	65
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
6. PERSPECTIVAS	68
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
8. ANEXOS.....	78

1. INTRODUÇÃO

A equideocultura ganha cada vez mais importância econômica no mercado brasileiro. A tropa nacional é superior a 7,8 milhões de equídeos (FAO, 2019) e, de acordo com o último levantamento econômico realizado em 2016, a renda gerada somente pelo agronegócio do cavalo movimentava aproximadamente 16,15 bilhões de reais por ano e produz cerca de três milhões de postos de trabalho, incluindo empregos diretos e indiretos, sendo o segmento que mais gera renda referente aos chamados “animais de lida”, que movimentava em torno de 8,58 bilhões do total arrecadado. O rebanho brasileiro é composto por mais de cinco milhões de equinos, dos quais aproximadamente 3,9 milhões são destinados ao trabalho em atividades agropecuárias. Apesar do avanço tecnológico e incorporação de máquinas, o cavalo continua sendo imprescindível em atividades agrícolas e pecuárias na maioria das propriedades, especialmente para o manejo de gado (MAPA, 2016).

O estado do Pará, que tem toda sua totalidade coberta pelo bioma Amazônia, possui o principal rebanho de bovídeos da região Norte do Brasil, com produção relevante para a economia do país (IBGE, 2019). A Ilha de Marajó, localizada no extremo norte do estado, é o maior arquipélago fluviomarítimo do mundo, constituindo-se numa das regiões mais ricas do Brasil em termos de recursos hídricos e biológicos. O arquipélago possui clima quente e úmido durante todo o ano, com ciclos anuais de secas e inundações, quando aproximadamente dois terços do território ficam alagados, entre os meses de janeiro e junho. Os cavalos das raças Marajoara e Puruca, originados na Ilha, são altamente adaptados às condições climáticas adversas da região e, portanto, desempenham papel fundamental no desenvolvimento da pecuária local, principal atividade econômica da região, especialmente a bubalinocultura (Brasil, 2007; FUNDAJ, 2014).

A anemia infecciosa equina (AIE) é a doença de origem viral mais importante dos equídeos (equinos, asininos e muares). A doença é provocada pelo *Equine infectious anemia virus* (EIAV), resultando em uma infecção persistente e incurável. Na ausência de vacinas eficazes, o controle da doença é dependente da quebra do ciclo de transmissão, que se dá pela transferência de sangue contaminado através de práticas de manejo inadequadas, especialmente pela reutilização de materiais contaminados, e pela picada de insetos hematófagos (Issel *et al.*, 2014). Há poucos dados disponíveis, mas acredita-se que a AIE seja endêmica na Ilha de Marajó, em acordo com as condições ecológicas peculiares do arquipélago, como calor e excesso de umidade, que favorecem uma alta densidade de insetos e, portanto, podem influenciar na prevalência de doenças de transmissão vetorial. Assumindo que a prevalência

seja alta, o estabelecimento de medidas de controle sanitário e identificação precoce dos animais infectados são essenciais para o controle da disseminação da AIE, pois viabilizaria uma maior sobrevivência dos cavalos, auxiliando na preservação das raças locais, além de possibilitar a comercialização e o desenvolvimento socioeconômico da região.

2. CAPÍTULO 1. Revisão de literatura

2.1. Ilha de Marajó

A aproximadamente 90 km de distância de Belém, capital do Pará, o Marajó se constitui no maior arquipélago fluviomarítimo do mundo, localizado no extremo norte do estado do Pará, na foz do rio Amazonas. Inicialmente chamada de “Grande Ilha de Joanes”, a principal ilha do arquipélago recebeu o nome de “Marajó” em 1754, que em tupi significa “barreira do mar”. Na porção noroeste, a Ilha é banhada pelas águas do rio Amazonas; ao norte, pelo Oceano Atlântico; ao leste, pela Baía do Marajó; e ao sul, pelo rio Pará. Com 49.606 km², a Ilha é hoje composta por 16 municípios: Afuá, Anajás, Bagre, Breves, Cachoeira do Arari, Chaves, Curralinho, Gurupá, Melgaço, Muaná, Ponta de Pedras, Portel, Salvaterra, Santa Cruz do Arari, São Sebastião da Boa Vista e Soure, subdivididos em três microrregiões, conforme apresentado na Figura 1 (Lima *et al.*, 2005; Brasil, 2007).



Figura 1. Mapa da Ilha de Marajó (Pará) e seus municípios
Adaptado de: <http://movimentomarajoforte.blogspot.com/p/mesorregiao-do-marajo.html>

A Ilha de Marajó é inteiramente situada no bioma Amazônia. A região é caracterizada por clima de floresta tropical, com duas estações bem definidas: seca e chuvosa, regionalmente chamadas de “verão” e “inverno”. O período chuvoso compreende os meses de janeiro a junho, quando aproximadamente dois terços da superfície ficam alagadas, com registro de chuvas

praticamente todos os dias e maiores índices pluviométricos entre fevereiro e abril. Na estação seca, poucas chuvas localizadas ocorrem até dezembro. O índice pluviométrico anual varia de 2.800mm a 3.400mm, a temperatura anual média é de 27°C, enquanto a umidade relativa do ar se mantém acima de 80% durante todo o ano (Lima *et al.*, 2005; Schaan, 2010).

A maior parte do território apresenta superfície baixa e relativamente plana, sazonalmente inundada, onde se encontram manguezais, igapós, várzeas (que constituem os extensos campos naturais do Marajó) e os tesos, porções de terras altas não inundáveis e procurados pela população para moradia e refúgio do gado na estação chuvosa, assim como as áreas de terra firme (Brasil, 2007; IPEA, 2016). As áreas de várzeas, contendo solos com textura argilosa, são altamente férteis, em função da deposição de substâncias minerais e orgânicas em suspensão nas águas do rio Amazonas, causadas pela movimentação das marés (Brasil, 2012). Na porção norte-nordeste da Ilha, com maior influência oceânica, predominam planícies fluviomarinhas. Ao sul-sudoeste, com maior influência fluvial, predominam planícies aluviais (IPEA, 2016).

A fauna e a flora sofrem influência direta da hidrografia, caracterizada por uma complexa rede fluvial (canais, furos, lagos, etc.), e o movimento diário das águas é um elemento definidor da paisagem (Brasil, 2012). Tais características colaboram para a ocorrência de espécies altamente adaptadas à região, constituindo uma geomorfologia e biodiversidade únicas, bem como paisagens naturais heterogêneas, que tornam o local de grande interesse para pesquisas de ecossistemas (Lima *et al.*, 2005; Brasil, 2007).

Além dos animais nativos, várias espécies de mamíferos introduzidas se adaptaram muito bem e passaram a fazer parte do ecossistema local, algumas com grande relevância na economia, como no caso dos búfalos, introduzidos no Brasil no final do século XIX, pela Ilha de Marajó, naturalizaram-se e incorporaram-se à região. Hoje existem quatro raças no país: Murrah, Jafarabadi, Mediterrâneo e Carabao, além do tipo Baio, sem padrão racial definido. O mesmo aconteceu com os cavalos, de origem datada na Ilha em mais de 300 anos, fazem parte hoje da fauna local (Marques *et al.*, 2001; Marques *et al.*, 2003).

Algumas espécies, nativas e/ou adaptadas, correm risco de extinção pelo processo de desmatamento, caça e cruzamento com outras espécies. Dessa forma, foi implementado em 1997, em Salvaterra, o Banco de Germoplasma Animal da Amazônia Oriental (BAGAM), da Embrapa Amazônia Oriental, que tem como principal objetivo a conservação de germoplasma de animais de interesse econômico e/ou biológico, com risco de extinção e/ou descaracterização, bem como promover o melhoramento genético e conscientização da sociedade. No momento, das espécies marajoaras, fazem parte do banco os búfalos Carabao e

tipo Baio, os cavalos Marajoara e o Puruca, e o quelônio Muçua (Marques *et al.*, 2003; EMBRAPA, 2016).

2.1.1. Economia

Em 2012, o setor de serviços representou 70,9% do PIB da região, seguido do setor agropecuário, com 15,1% (Brasil, 2015). A economia na Ilha de Marajó é essencialmente primária, baseando-se em pesca, atividade madeireira, extrativismo vegetal, agricultura de subsistência, ecoturismo, ainda pouco explorado e, com maior expressividade, atividade pecuária (FUNDAJ, 2014).

Em 2019, o Pará registrou 20,8 milhões de cabeças de gado, o 4º maior rebanho bovino do país, estimado em 214,9 milhões. Quanto ao rebanho bubalino, o efetivo nacional foi de 1,4 milhão de cabeças e o estado do Pará concentrou 38,1% desse total, equivalente a 546 mil cabeças. O rebanho marajoara é constituído por bovinos (mais de 246 mil cabeças) e búfalos, considerados o símbolo do Marajó, com mais 391 mil cabeças, correspondente a 71,6% do total paraense (IBGE, 2019). Cerca de 22,8% do território é destinado a pecuária extensiva, especialmente a bubalinocultura, que representou 75% do PIB do setor agropecuário (Brasil, 2007; Brasil, 2015). Em termos municipais, o maior efetivo bovino foi localizado em Chaves, seguido por Cachoeira do Arari, Ponta de Pedras e Soure. Em relação aos bubalinos, o município com maior rebanho foi Chaves, o segundo maior Soure, seguido por Cachoeira do Arari e Ponta de Pedras (IBGE, 2019).

Outro importante protagonista no cenário da pecuária marajoara é o cavalo, principalmente as raças Marajoara e Puruca, originados na Ilha de Marajó. Esses animais desenvolveram características que permitiram sua adaptação às condições climáticas adversas da região, são rústicos, com cascos resistentes e excelentes nadadores, sendo fundamentais no manejo extensivo dos rebanhos bovino e bubalino para suprir as necessidades do trabalho de campo e transporte, com baixo custo operacional, principalmente no período chuvoso (Marques *et al.*, 2016). Em 2019, o efetivo da Ilha foi estimado em 28.744 equinos, com maior rebanho em Chaves, seguido por Soure, Ponta de Pedras e Cachoeira do Arari (Tab.1) (IBGE, 2019). Nesses municípios, a maior população de cavalos coincide com o maior número de rebanhos bovinos e bubalinos, corroborando a importância desses animais no desenvolvimento da pecuária local.

Tabela 1. Quantidade de bovinos, bubalinos e equinos nos 4 municípios que contêm os maiores efetivos da Ilha de Marajó.

	Bovinos	Bubalinos	Equinos
Cachoeira do Arari	42.123	44.567	3.192
Chaves	66.748	175.439	8.515
Soure	35.728	84.267	6.892
Ponta de Pedras	36.123	27.845	5.279

Fonte: (IBGE, 2019)

2.1.2. Origem do cavalo Marajoara

Os primeiros lotes de equinos foram trazidos de Cabo Verde, por volta de 1702, pelos colonizadores portugueses. Ocorreu então uma grande miscigenação entre raças lusitanas, principalmente o Altér e o Puro Sangue Lusitano, originando o cavalo Marajoara. O criatório foi iniciado em Belém do Pará, onde se reproduziram excessivamente na cidade ainda em fase de formação e com pequeno espaço disponível. Eles devastavam as roças e plantações, trazendo grandes prejuízos, assim acabaram sendo realocados para a Ilha de Marajó (Costa *et al.*, 2005; Marques *et al.*, 2016).

Desde a introdução na Ilha, os cavalos foram submetidos às mais adversas condições, num ecossistema totalmente diferente do seu continente de origem, com excesso de umidade e alta temperatura. O ambiente hostil foi compensado por uma ampla variedade de pastagens nativas dos extensos campos do Marajó, resultando num fenótipo bem adaptado e produtivo. O sucesso dessa adaptação resultou em um grande aumento da população equina, estimada em um milhão de cabeças, o que começou a trazer prejuízos para outras atividades agropecuárias, pois as pastagens disponíveis se tornaram insuficientes para o uso dos bovinos. Dessa forma, o abate dos cavalos chegou a ser estimulado pelo governo local no final do século XIX (Costa, 2008; FAEPA, 2015; EMBRAPA, 2016).

Por muito tempo, esses animais assumiram a condição de vida selvagem, adquirindo rusticidade, força, resistência e agilidade no deslocamento em locais pantanosos, importantes características da raça. Entretanto, com o abate deliberado e a ocorrência de epidemias, a população desses animais foi reduzida drasticamente. Estima-se que hoje exista em torno de 150.000 exemplares em algumas regiões do Norte do Brasil, muitos deles mestiçados com outras raças (Marques *et al.*, 2001; FAEPA, 2015; Marques *et al.*, 2016).

2.1.3. Origem do cavalo Puruca

Introduzidos na Ilha pelo criador Pedro Leite Chermont e inicialmente chamado de “Pônei Marajoara”, o cavalo Puruca é resultante de cruzamentos do cavalo Marajoara com pôneis da raça Shetland, de origem inglesa, importados da França na penúltima década do século XIX. Desses cruzamentos, foram selecionados aqueles com o menor porte, com altura padrão de 1,18m (Marques *et al.*, 2012; Marques *et al.*, 2016).

Assim como o Marajoara, eles passaram pelo mesmo processo de seleção natural frente às severas condições ambientais da região, fixando as características de rusticidade e resistência do cavalo Marajoara, embora de porte bem menor e temperamento dócil, tornando-se indispensáveis nas atividades pecuárias do arquipélago (Costa, 2008; McManus *et al.*, 2010).

Atualmente a população de Purucas está concentrada praticamente na Ilha de Marajó e é estimada em apenas 500 exemplares, com pouco mais de 20 criadores. Entretanto as informações disponíveis não são concretas, visto que a associação de criadores está inativa há anos, o que acaba agravando ainda mais a situação da raça, sem controle genealógico e em risco de extinção (Marques *et al.*, 2016; EMBRAPA, 2016).

2.1.4. Descaracterização das raças

O desenvolvimento das raças Marajoara e Puruca na Ilha de Marajó é um clássico caso de seleção artificial, baseado no cruzamento preferencial de animais que melhor representavam as características desejadas (Reis *et al.*, 2008). Entretanto, essas raças estão sofrendo atualmente um processo de descaracterização. Do ponto de vista genético, devido ao isolamento, essas duas raças estariam geneticamente estabilizadas, o que compromete tal fato é o fluxo gênico indiscriminado com outras raças introduzidas, levando a uma redução do número de indivíduos com características completas, colocando-as em risco de extinção (Costa *et al.*, 2005; Marques *et al.*, 2016).

Apesar de todas as características positivas, o Marajoara sempre esteve sob pressão para aumentar o porte, a postura e melhorar a aparência, principalmente, porque os criadores priorizam as características fenotípicas, sem levar em consideração a rusticidade e adaptação ao meio ambiente (Marques *et al.*, 2016). Esses animais têm sofrido grande descaracterização resultante de cruzamentos mal dirigidos, que ameaçam o futuro da raça pela frequência com que essa prática ocorre. Atualmente, não há muitos animais padronizados dentro das características do Marajoara original. A maior parte da população já é mestiçada com outras raças recentemente introduzidas, como Quarto de Milha, Mangalarga Paulista, Puro Sangue Inglês e Árabe (Costa, 2008; Marques *et al.*, 2001; Marques *et al.*, 2016). O Puruca sofre uma

ameaça ainda maior por constituir uma população muito pequena. Além do cruzamento com raças exóticas puras e seus mestiços, ele também é submetido ao cruzamento desordenado com o Marajoara, o que tem resultado em uma substituição progressiva do Puruca para um animal de maior porte, descaracterizando o principal padrão da raça (Marques *et al.*, 2016).

Em um estudo com marcadores de microssatélites de DNA, foi encontrada redução na heterozigose nas populações de Marajoaras e Purucas superior ao encontrado em outras raças europeias e brasileiras, sugerindo um aumento de endogamia, uma prática comum entre animais domésticos, mas mais comum ainda em populações com o tamanho reduzido. Neste mesmo estudo, notou-se uma diversidade genética ligeiramente maior no Marajoara em relação ao Puruca, tal achado foi atribuído ao fato de que o Marajoara constitui uma população maior e base fundadora mais ampla (Reis *et al.*, 2008; Ianella *et al.*, 2017).

As pesquisas mostram que devido a uma estreita relação genética observada entre as duas raças, o Marajoara pode ser utilizado como reserva biológica para a raça Puruca e vice-versa, com necessidade de isolamento reprodutivo para maior fixação de suas características raciais e genéticas (Costa *et al.*, 2005; Marques *et al.*, 2016).

Com o objetivo de conservar esses genótipos, foi implantado o Núcleo de Conservação de Cavalos Marajoaras e Purucas, no BAGAM, que mantém 43 cavalos Marajoaras e 17 Purucas. Estudos com as raças visam elaborar um programa de melhoramento, recuperação e conservação, bem como otimizar acasalamentos entre indivíduos geneticamente mais distintos. Entre as ações desenvolvidas, estão a conscientização da população sobre práticas de manejo adequadas, nutrição e manejo sanitário, que tem como principais problemas o garrotinho, a anemia infecciosa equina, a brucelose, o tétano, a laminite e outros (Marques *et al.*, 2016).

2.1.5. Características e importância dos cavalos

Os cavalos característicos da Amazônia (Fig. 2) são animais versáteis, fortes, inteligentes, rústicos e com grande resistência às adversidades do meio, adquiriram uma série de adaptações morfológicas, como cascos arredondados e modificações musculares relacionadas ao trote, especializados para locais pantanosos, terras firmes, secas e pastagens para búfalos (Reis *et al.*, 2008; Marques *et al.*, 2016). Pelas aptidões desenvolvidas, eles são imprescindíveis para o desenvolvimento da pecuária, na lida diária no campo, no manejo quase sempre extensivo de bovinos e bubalinos. São capazes de suportar grandes cargas, competindo até mesmo com búfalos nessa função, e portanto são utilizados também para suprir as

necessidades de tração (ex.: carroças e até pequenas embarcações) em trabalhos de rotina das fazendas regionais (Costa, 2008; Marques *et al.*, 2016).

Ambas as raças possuem qualquer pelagem (exceto albina e pampa), são fortes, com o porte bem proporcionado, musculatura definida, enérgicos e com andar em trote. O Marajoara tem porte médio, os machos têm entre 1,35m e 1,56m de altura, já as fêmeas têm 1,30m e 1,50m. O Puruca tem porte pequeno, com 1,10m a 1,18m de altura para os machos, enquanto as fêmeas podem medir de 1,00m a 1,10m (McManus *et al.*, 2010; Costa, 2008).



Figura 2. Cavalos das raças Marajoara (esquerda) e Puruca (direita).
Fonte: (Marques *et al.*, 2016)

Os cavalos são utilizados principalmente como animais de serviço, mas também são considerados parte indissociáveis das relações socioculturais da região. Ambos possuem temperamento ativo e dócil, apresentando perfil adequado para desenvolvimento de atividades de turismo, esporte e lazer. Anualmente, participam de festas tradicionais da Ilha, como provas de resistência, enduros e corridas (FAEPA, 2015; Marques *et al.*, 2016).

Uma reportagem publicada na Folha de São Paulo, em 1995, conta sobre a “Corrida do Cavalo Marajoara”, a mais tradicional prova de enduro equestre do Pará, com aproximadamente 180 km e duração de dois dias. Segundo a reportagem, essa corrida pertencia à “Feira Agropecuária do Arquipélago de Marajó” e estaria na sua 38ª edição naquele ano. Em 2017, foi realizado em Soure o “I Festival do Cavalo Marajoara”, que recebeu visitantes e competidores de todo o Arquipélago e de outras capitais além de Belém. Com o sucesso da primeira edição, foi dada continuidade ao evento, com realização da terceira edição em 2019 e adição de novas modalidades, sendo o enduro do cavalo Marajoara a prova mais esperada (Brasil, 2017; Brasil, 2019a). Os eventos e as feiras são importantes para a movimentação da economia local e

resgatam a tradição e a história da região marajoara, além de serem uma boa oportunidade para divulgação da gastronomia, beleza, cultura e paisagem local.

2.2. Anemia infecciosa equina (AIE)

2.2.1. Partícula viral e genoma

A AIE é uma doença infectocontagiosa que acomete os equinos, asininos e muares, e é provocada pelo *Equine infectious anemia virus* (EIAV), um vírus classificado no gênero *Lentivirus*, subfamília *Orthoretrovirinae* e família *Retroviridae*. Recentemente, houve uma reclassificação dos níveis taxonômicos superiores e os retrovírus foram incluídos na ordem *Ortervirales*, classe *Revtraviricetes*, filo *Artverviricota*, reino *Riboviria* (ICTV, 2021).

O material genético do EIAV constitui-se de duas cópias de RNA de fita simples, não complementares, de sentido positivo, com aproximadamente 8,2kbp, o menor e mais simples genoma dentre os lentivírus conhecidos. Conforme demonstrado na Figura 3, o material genético está inserido em um nucleocapsídeo, juntamente com as enzimas virais. A matriz proteica em torno do capsídeo é delimitada pelo envelope viral, originado a partir da membrana celular do hospedeiro (Cook *et al.*, 2013; Leroux *et al.*, 2004).

Em comum com outros retrovírus, o genoma do EIAV possui os principais genes estruturais *gag*, *pol* e *env*, flanqueados por duas regiões *long terminal repeats* (LTR) não codificantes (Fig.1). O gene *env* codifica as glicoproteínas do envelope gp45 (transmembrana) e gp90 (superfície). Assim como em outros retrovírus, *gag* é o maior gene estrutural, produz as proteínas p15 (matriz), p26 (capsídeo), p11 (nucleocapsídeo) e p9, que medeia a liberação da progênie viral para o meio extracelular (Leroux *et al.*, 2004; Cook *et al.*, 2013). As proteínas codificadas por *pol* incluem as proteases virais (p12), responsáveis pela clivagem de poliproteínas; integrase (p30), que promove a integração do DNA proviral ao núcleo da célula hospedeira; transcriptase reversa (RT), necessária para a conversão do RNA viral em DNA, que também contém atividade de RNase H, para degradação do RNA hibridizado ao DNA; e a dUTPase, que regula a relação dUTP/dTTP intracelular, evitando a incorporação incorreta de uracila (U) no DNA sintetizado, uma vez que a maioria das polimerases de DNA não têm capacidade de diferenciar U de T (Leroux *et al.*, 2005; Cook *et al.*, 2013; Hizi and Herzig, 2015).

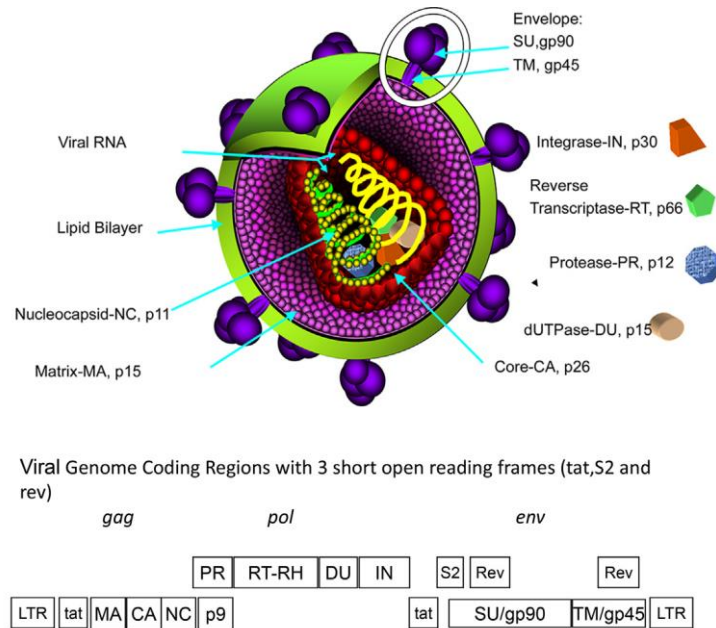


Figura 3. Estrutura e genoma do EIAV
Fonte: (Issel *et al.*, 2014)

Adicionalmente, o EIAV possui três *open reading frames* (ORF) que codificam as proteínas regulatórias *tat* e *rev*, existentes em todos os lentivírus, e a *S2*, única no EIAV (Reis and Cook, 2014). A proteína *tat* (transativadora da transcrição) regula a expressão gênica através da interação com o elemento TAR (elemento responsivo a *tat*), localizado na região LTR. Essa interação resulta no recrutamento de fatores celulares que potencializam a atividade de alongamento da RNA polimerase II (Anand *et al.*, 2008; Cook *et al.*, 2013). *Rev* promove a exportação nuclear de mRNA com *splicing* incompleto, que serão traduzidos em proteínas virais ou serão empacotados para a formação de novas partículas. Essa proteína se liga ao elemento RRE (elemento responsivo ao *Rev*) presente nos mRNA e sofre multimerização antes de ser transportado, facilitando a exportação do núcleo para o citoplasma através de um fator de exportação do hospedeiro, que acredita-se ser o fator Crm1 (Carpenter and Dobbs, 2010; Cook *et al.*, 2013). Ainda não se sabe muito sobre os mecanismos de ação de *S2*, mas é bem estabelecido que essa proteína é essencial para a patogênese e progressão da doença, possivelmente pela desregulação na expressão de citocinas, otimizando o ambiente intracelular para replicação e disseminação viral (Fagerness *et al.*, 2006; Covalada *et al.*, 2010).

2.2.2. Tropismo viral

O EIAV infecta naturalmente células da linhagem monócito/macrófago. As proteínas *env* estão envolvidas com a entrada do EIAV na célula hospedeira, sendo a gp90 responsável

pela ligação ao receptor celular, identificado como *equine lentivirus receptor-1* (ELR-1), um membro da família de receptores do fator de necrose tumoral (TNF) (Zhang *et al.*, 2005; Issel *et al.*, 2014).

Apesar de os monócitos/macrófagos serem os alvos primários do EIAV, seu tropismo não é restrito somente a estas células. Vírus infeccioso já foi obtido em cultivo primário de células endoteliais de artéria renal isoladas de um cavalo assintomático cronicamente infectado (Maury *et al.*, 1998). Proteínas do capsídeo viral foram detectadas em células do epitélio pulmonar de cavalos naturalmente infectados, o que poderia estar relacionado a lesões pulmonares observadas nesses animais (Bolfá *et al.*, 2013). Em outro estudo, antígenos do EIAV também foram encontrados em células epiteliais de bronquíolos terminais e células endoteliais de septos alveolares, e adicionalmente nos rins, em células epiteliais dos túbulos proximais e distais de cavalos naturalmente infectados (Bueno *et al.*, 2020). A importância desses tipos celulares na persistência viral, evolução e transmissão da doença ainda não foi elucidada.

2.2.3. Sinais clínicos

O EIAV é responsável por uma infecção persistente, com curso dinâmico e bem definido em equinos. Baseado em infecções experimentais, tipicamente, podem ocorrer três fases clínicas distintas: aguda, crônica e inaparente (Fig. 4). A fase aguda ocorre após um período de incubação de uma a quatro semanas, é caracterizada por febre, queda acentuada no número de plaquetas e alta carga viral, entretanto, os sinais podem ser ausentes ou leves, passando despercebidos pelo proprietário (Issel *et al.*, 2014). Na maioria dos casos, o animal sobrevive a esse primeiro ataque febril e o episódio agudo desaparece em alguns dias. Então, o cavalo entra na fase crônica, com duração variável (quatro a 12 meses), em que se observa ciclos recorrentes de trombocitopenia e febre, acompanhados por viremia, relacionados ao ressurgimento de mutantes que escapam à resposta imunológica do hospedeiro. Se os episódios clínicos forem frequentes, o animal pode desenvolver as manifestações clássicas, que incluem perda de peso, hepatomegalia, esplenomegalia, edema, caquexia, eventuais sinais neurológicos, supressão transitória da resposta imunológica e hemorragias, que levam à deterioração do quadro geral (Leroux *et al.*, 2005; Issel *et al.*, 2014).

Apesar da alta taxa de replicação do vírus e da rápida variação antigênica, principalmente do gene *env*, mais de 90% dos cavalos sobrevivem à fase crônica e evoluem para o estágio de portador inaparente, com baixa carga viral e ausência de sinais clínicos,

devido a um eficiente controle imunológico. Esses portadores assintomáticos são resistentes à infecção subsequente por diferentes estirpes, indicando o desenvolvimento de uma potente resposta profilática (Craig and Montelaro, 2013). A fase assintomática pode durar por toda vida do animal, mas é reversível sob condições de estresse ou imunossupressão, quando o vírus pode voltar a se replicar em níveis suficientes pra desenvolver a doença novamente (Leroux *et al.*, 2004; Cook *et al.*, 2013), conforme representado na Figura 4.

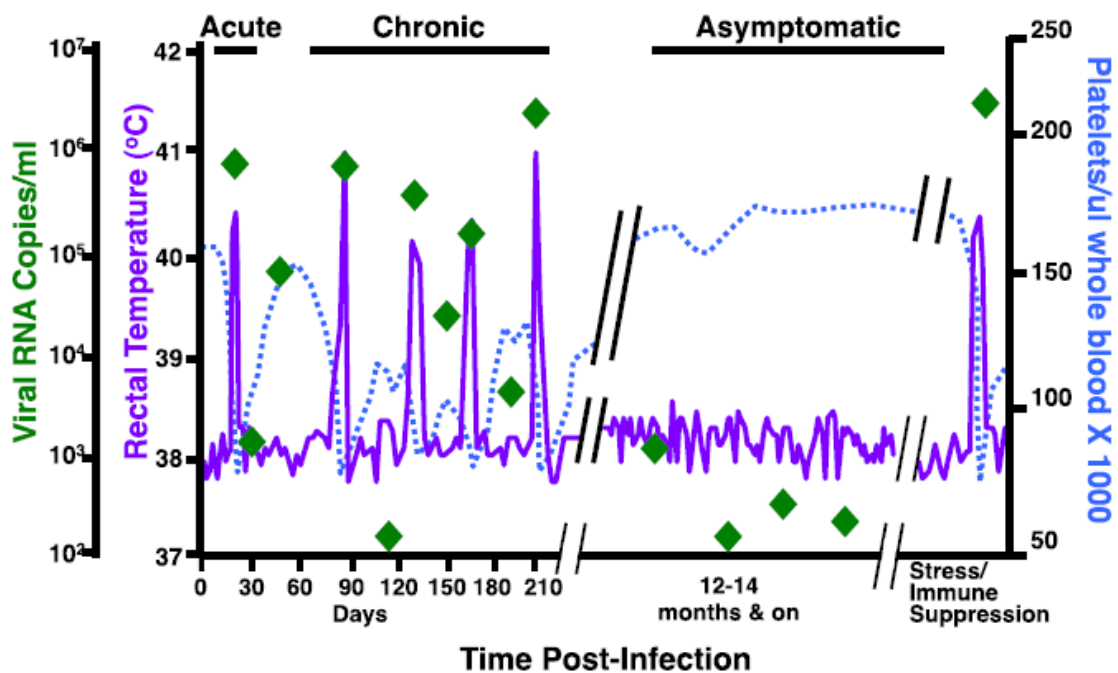


Figura 4. Perfil da evolução da infecção após inoculação experimental em cavalo com estirpe patogênica do EIAV. Valores de referência: febre: acima de 39°C; trombocitopenia: plaquetas abaixo de 10500/ μ L de sangue; viremia: $\geq 10^5$ cópias de RNA/mL de plasma.

Fonte: (Craig and Montelaro, 2013)

Os muare desenvolvem sinais clínicos de forma similar ao observado em equinos, bem como também são potenciais fontes de infecção para animais suscetíveis (Spyrou *et al.*, 2003). Muare assintomáticos naturalmente infectados, submetidos à imunossupressão farmacológica, apresentaram níveis de viremia de 10 a 1000 vezes menores do que os observados para cavalos, mesmo assim apresentaram reativação do EIAV, com detecção de febre entre nove e 17 dias após a imunossupressão e episódios característicos da forma aguda da doença (Autorino *et al.*, 2016).

Por razões ainda não elucidadas, o EIAV não afeta asininos da mesma forma. Equinos e asininos foram experimentalmente infectados com a mesma estirpe do EIAV, embora todos os equinos tenham desenvolvido doença grave, os jumentos permaneceram clinicamente saudáveis durante o período de observação de 365 dias, apresentando somente leve redução

transitória de plaquetas e carga de RNA viral plasmático pelo menos 1000 vezes menor do que os cavalos, indicando que uma carga viral mínima deve ser alcançada para permitir o desenvolvimento de sinais clínicos. Foi demonstrado *in vitro* que macrófagos derivados de monócitos (MDM) equinos e asininos foram igualmente suscetíveis, sugerindo que as diferenças clínicas observadas entre essas duas espécies não estão relacionadas à permissividade da célula hospedeira (Cook *et al.*, 2001). Outro estudo sugere que as adenosinas desaminases 1 (ADAR1), de edição de RNA, podem estar relacionadas a adaptação do EIAV em asininos. Essas enzimas reconhecem dsRNA e convertem adenosinas (A) em inosinas (I), que são identificadas como guanosinas (G) durante a tradução (Tang *et al.*, 2015). Estas substituições A-para-G foram as mais frequentes no genoma de uma estirpe altamente patogênica (EIAV_{DV117}) adaptada em jumento, quando comparada ao vírus parental (EIAV_{LN40}) não patogênico para esta espécie (Tang *et al.*, 2016).

2.2.4. Resposta imunológica do hospedeiro

A infecção pelo EIAV é considerada como um modelo de resistência imunológica natural contra a replicação e persistência dos lentivírus. Entre esses mecanismos, destacam-se: integração ao DNA da célula hospedeira; infecção de monócitos com ativação somente em macrófagos maduros, permitindo disseminação do vírus pelo organismo sem detecção pelo sistema imunológico; resistência natural aos fatores de restrição do hospedeiro; variação genética e antigênica, especialmente das proteínas gp90, que sofrem mudanças de aminoácidos em determinadas regiões sem causar perda significativa de função biológica, conferindo resistência aos anticorpos neutralizantes (NAbs) (Reis and Cook, 2014).

Em cavalos e pôneis, os anticorpos contra o EIAV podem ser detectados por immunoblot ou ELISA em 14 a 28 dias pós-infecção (dpi) em estudos experimentais (Mealey *et al.*, 2005; Cook *et al.*, 2013). Naves *et al* (2019) detectaram IgG anti-gp45 e anti-gp90 em 10 dpi utilizando ELISA. O'Rourke *et al* (1988) demonstraram que os títulos de anticorpos contra gp90 e gp45 eram 10 a 100 vezes superiores aos títulos de anti-p26 em potros experimentalmente infectados. Embora as glicoproteínas virais sejam altamente imunogênicas, acredita-se que os anticorpos não tenham atividade neutralizante no início da infecção e que não estejam associados ao controle da viremia inicial (Mealey *et al.*, 2005; Cook *et al.*, 2013).

Em infecção experimental, a presença de IgG e IgM foi detectada no soro de pôneis em três semanas pós-infecção (spi). Anticorpos IgM aparecem mais cedo, mas têm menor durabilidade. Os níveis de IgM contra *env* foram detectados três spi, atingiram nível máximo

no mesmo intervalo e ficaram indetectáveis após cinco semanas. As IgGs contra proteínas do envelope aumentaram gradualmente e atingiram valores máximos em sete a 10 spi, enquanto as IgGs anti-p26 aumentaram rapidamente e atingiram níveis máximos entre quatro e oito spi. A avidéz dos anticorpos aumentou gradualmente e atingiu picos entre oito a 10 meses após a infecção, com maturação semelhante para ambas as proteínas. Entretanto, NAbs não foram detectados até dois a três meses e aumentaram em aproximadamente quatro meses, quando os episódios febris iniciais já tinham sido superados, semanas antes do surgimento dos NAbs (Hammond *et al.*, 1997). Os NAbs já foram detectados mais precocemente, em 23 a 46 dpi e 14 dpi, porém com baixos níveis de atividade neutralizante (O'Rourke *et al.*, 1988; Mealey *et al.*, 2005). A resposta imune humoral contra o EIAV pode levar de seis a oito meses para amadurecer completamente o que poderia explicar a duração da fase crônica da doença, que é de oito a 12 meses (Hammond *et al.*, 1997).

Um mapeamento antigênico demonstrou a presença de epítomos variáveis e conservados na gp90 e na gp45, sendo que uma maior variação antigênica foi observada na gp90 (Rwambo *et al.*, 1990; Leroux *et al.*, 1997). Os NAbs são dirigidos contra epítomos localizados em regiões hipervariáveis (V1 a V8) na gp90, principalmente contra um epítomo no domínio V5 e dois localizados no domínio V3, designado como o principal domínio neutralizante (PND - *principal neutralizing domain*), já os epítomos não neutralizantes são localizados em ambas as regiões, variáveis e conservadas (Payne *et al.*, 1989; Ball *et al.*, 1992). Pôneis experimentalmente infectados com uma estirpe com PND deletado permaneceram assintomáticos durante 14 meses, com ausência de NAbs durante esse período, demonstrando a capacidade do sistema imunológico em controlar a replicação viral para níveis subclínicos mesmo nessa condição (Craig *et al.*, 2002).

Em pôneis experimentalmente infectados com uma estirpe mutante de PND e submetidos à imunossupressão, após o surgimento de episódios clássicos de AIE e interrupção da imunossupressão, observou-se melhora dos sintomas clínicos, com redução da carga viral, conforme o esperado. Curiosamente, foi observado aumento acentuado no nível de anticorpos específicos para *env*, acompanhados por NAbs contra a estirpe mutante do EIAV, semelhante à resposta observada na infecção experimental com a estirpe de referência EIAV_{PV}. Entretanto, essas respostas não apresentaram atividade neutralizante detectável contra a estirpe EIAV_{PV} contendo gp90 completa, indicando a capacidade do hospedeiro em gerar resposta neutralizante mesmo na ausência do domínio imunodominante PND (Craig *et al.*, 2002).

Atualmente acredita-se que as respostas imunes mediadas por células são responsáveis pelo controle inicial da infecção pelo EIAV e não as humorais, que podem levar de seis a oito

meses para maturação completa (Hammond *et al.*, 1997; Mealey *et al.*, 2005). Cavalos experimentalmente infectados desenvolveram resposta de linfócitos T citotóxicos (CTL) contra *gag* e *env* em 14 dpi e foram capazes de controlar o pico virêmico inicial. Apesar da dominância da resposta contra *env*, o controle da carga viral correlacionou-se com a frequência de TCD8+ específico para *gag*, provavelmente devido ao escape imunológico de variantes virais *env* identificadas em cavalos, o que não foi observado para *gag*. Portanto, o escape viral limita a eficiência de uma resposta CTL imunodominante contra *env*, indicando que as repostas específicas para *gag* tem um papel fundamental no controle imunológico do EIAV (Mealey *et al.*, 2005).

Uma vez que a replicação viral aguda tenha sido controlada, o animal permanece livre de sinais clínicos evidentes até que uma variante viral apareça e escape do controle imunológico. No mesmo animal, em cada novo episódio febril há o surgimento de uma variante viral, não neutralizada por anticorpos gerados contra os vírus do episódio febril anterior. Isso ocorre devido à ausência de revisão pela transcriptase reversa e por eventos de recombinação entre as duas cópias de RNA em cada partícula viral (Hammond *et al.*, 1997; Reis and Cook, 2014). Um estudo sobre a cinética de escape de anticorpos em cavalos com imunodeficiência combinada severa, experimentalmente infectados com EIAV, após transfusão de plasma contendo NAbs, confirmou que a pressão seletiva dos NAbs passivamente transferidos resultam em mudanças rápidas e profundas na composição da população do vírus *in vivo* (Schwartz *et al.*, 2015).

Finalmente, a redução dos níveis de viremia durante a fase crônica e o controle geral da doença ocorrem quando há uma maturação e ampliação da resposta imune celular e humoral, devido ao aumento de reconhecimento de epítomos associados às respostas celulares, e pela evolução dos anticorpos específicos, que passam gradualmente de uma população de baixa avidéz e não neutralizante para uma população com avidéz mais elevada, com ação neutralizante e um perfil de reatividade cruzada mais genérica (Hammond *et al.*, 1997). Mesmo com aprimoramento das repostas, capazes de restringir o EIAV e prevenir a doença por longos períodos, o provírus e o RNA viral persistem em todos os tecidos em níveis extremamente baixos, portanto, apesar de o sistema imunológico desenvolver uma resposta robusta, isso não é suficiente para eliminar completamente o vírus do organismo (Harrold *et al.*, 2000).

2.2.5. Transmissão

O sangue do animal contaminado é a principal fonte de infecção, portanto, aqueles indivíduos na fase aguda/crônica que apresentam picos de viremia, são particularmente mais eficientes na transmissão do EIAV. A maioria dos equídeos infectados na natureza estão assintomáticos e, apesar da baixa carga viral, eles representam um papel significativo na manutenção da EIAV, uma vez que são reservatórios permanentes do vírus. A importância dos portadores inaparentes como potenciais fontes de infecção para animais suscetíveis foi demonstrada experimentalmente, pela transferência de sangue de cavalos assintomáticos para recipientes não infectados, que se tornaram positivos em poucos dias (Issel *et al.*, 1982; Leroux *et al.*, 2004).

A transmissão mecânica por insetos hematófagos desempenha o papel mais importante na cadeia de transmissão natural do EIAV, principalmente pelas moscas do cavalo (família Tabanidae, gênero *Tabanus* ou *Hybomitra*), moscas do cervo (família Tabanidae, gênero *Chrysops*) e, em menor frequência, pelas moscas do estábulo (família Muscidae, gênero *Stomoxys*) (Issel and Foil, 2015). Essa via de transmissão ocorre quando o repasto sanguíneo é interrompido, devido ao comportamento defensivo do animal, e o inseto procura um segundo hospedeiro para se alimentar. Foi demonstrado que os tabanídeos tendem a voltar para o hospedeiro original após a interrupção e que, quanto maior a distância entre os animais, menor é a probabilidade de o inseto se deslocar entre eles, sendo que nenhum tabanídeo foi transferido entre equinos separados por 50 metros de distância (Barros and Foil, 2007). O risco de transmissão é proporcional à prevalência da doença na propriedade, à proximidade entre os animais positivos e suscetíveis, bem como à densidade de vetores, que pode ser influenciada por fatores ambientais propícios à manutenção de habitats de larvas de tabanídeos, tais como florestas e pântanos inundados sazonalmente (Silva *et al.*, 2001; Issel and Foil, 2015). Na Amazônia brasileira, centenas de espécies já foram identificadas, entre as quais o *T. fulvohirtus*, *T. importunus*, *T. trilineatus*, *T. modestus*, *T. rubripes* e *S. calcitrans* já foram encontrados na Ilha de Marajó (Coscarón and Papavero, 2009; Silva *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2000; Benchimol and Sá, 2005)

Os seres humanos têm um papel considerável na disseminação do EIAV, devido às práticas comumente observadas de compartilhamento de agulhas e outros materiais cirúrgicos, equipamentos de montaria, como selas, embocaduras, esporas, freios, chicotes e qualquer outro material que possa acarretar na transferência de sangue entre diferentes animais. Entre os fatores que favorecem a transmissão, destacam-se: (1) carga do agente transferido para o equídeo suscetível, que depende tanto do título viral quanto do volume de sangue inoculado; e (2) o tempo necessário (relacionado à distância) para chegar ao hospedeiro suscetível (Issel *et al.*,

2014; Issel and Foil, 2015). Já foi descrito que o vírus permanece viável por até 96 horas em agulhas hipodérmicas, ao passo que no aparelho bucal de insetos a infectividade se mantém por aproximadamente uma hora (Williams *et al.*, 1981). Em relação ao volume sanguíneo, após uma coleta de sangue, uma agulha hipodérmica pode reter entre 10 a 100 μ L de sangue, ao passo que no aparelho bucal de uma mosca do cavalo, de tamanho médio, apenas cerca de 10nL ficam retidos (Reis and Cook, 2014). Portanto, em determinadas populações, a transmissão do EIAV pela via iatrogênica é potencialmente mais eficaz, caso não sejam adotadas as medidas apropriadas de manejo sanitário.

A transmissão vertical também é uma possibilidade e, ao que tudo indica, é um evento raro, mas a literatura é escassa e os poucos trabalhos existentes são antigos, muitos dos quais não estão disponíveis para leitura (Kemen Jr and Coggins, 1972; Tashjian, 1984; Issel *et al.*, 1985; Board, 1914; Stein and Mott, 1946; Stein and Mott, 1947). Em um estudo sobre transmissão intrauterina, foi descrito que 100% (7/7) de potros nascidos de éguas com manifestação clínica da AIE infectaram-se durante a gestação, enquanto a chance de transmissão intrauterina para o feto em éguas assintomáticas foi menor que 11% (Kemen Jr and Coggins, 1972, citado por Gregg and Polejaeva, 2009). Há ainda a possibilidade de transmissão pela ingestão de leite e/ou colostro, que é bem estabelecida para outros lentivirus, como *Small Ruminant Lentiviruses* (SRLV), *Feline Immunodeficiency virus* (FIV) e *Human Immunodeficiency virus type 1* (HIV-1), com importância epidemiológica significativa na cadeia de transmissão desses vírus (Blacklaws *et al.*, 2004; Burkhard and Dean, 2003; Overbaugh, 2014), porém pouco se sabe sobre o papel do leite e outras secreções como fonte de infecção do EIAV. Foi descrito que o leite de éguas positivas foi capaz de infectar animais saudáveis após inoculação experimental, mas não transmitiu o vírus para potros durante a amamentação (Board, 1914; Stein and Mott, 1947, 1946; citado por Gregg and Polejaeva, 2009), enquanto outros poucos trabalhos mencionam essa possibilidade de transmissão (Spickler, 2009; Sellon, 1993). Alguns autores apontam que os potros podem se manter livres da infecção mesmo quando criados próximos a adultos soropositivos e em áreas com alta densidade de insetos vetores, atingindo taxas de transmissão epidemiologicamente irrelevantes (Issel *et al.*, 1985; Nogueira *et al.*, 2011; McConnico *et al.*, 2000). Portanto, há indícios de que os potros raramente apresentam-se infectados no nascimento e sejam mais resistentes à infecção pelo EIAV, seja pela menor carga de tabanídeos encontrada em animais mais jovens em relação aos adultos (Foil *et al.*, 1985), seja pela proteção fornecida por anticorpos maternos ou por algum outro fator ainda desconhecido. Todavia, não há dados disponíveis suficientes para suportar essa afirmação (Issel and McConnico, 2001).

2.2.6. Epidemiologia

De acordo com os indicadores do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), foram registrados 137.339 casos de AIE em 71.662 focos da doença no Brasil entre 1999 e 2019, com maior número de casos registrados no Mato Grosso, Maranhão, Ceará, Pará e Bahia, respectivamente (Tab. 2). Entretanto, os dados referem-se somente à espécie equina, não tendo sido disponibilizados os casos registrados em asininos e muares (Brasil, 2019b).

Tabela 2. Número de casos e focos de AIE em equinos, por unidade federativa, notificados ao MAPA entre 1999 e 2019.

Estado	Nº de casos	Nº de focos
Acre	2.303	1.228
Alagoas	3.586	2.066
Amazonas	719	290
Amapá	383	152
Bahia	7.302	3.460
Ceará	9.720	7.116
Distrito Federal	419	336
Espírito Santo	1.121	516
Goiás	4.951	2.371
Maranhão	12.891	8.648
Minas Gerais	5.494	2.465
Mato Grosso do Sul	6.971	2.690
Mato Grosso	20.081	7.923
Pará	7.982	4.075
Paraíba	1.137	796
Pernambuco	2.618	1.476
Piauí	5.688	4.144
Paraná	468	344
Rio de Janeiro	2.556	1.471
Rio Grande do Norte	403	283
Rondônia	4.258	2.567
Roraima	2.088	1.265
Rio Grande do Sul	832	437
Santa Catarina	467	320

Sergipe	379	193
São Paulo	1.348	628
Tocantins	4.269	1.968
Não especificado*	26.905	12.434
Total	137.339	71.662

* Entre 1999 e 2004, não foi especificado o estado em que foi feita a notificação.
Fonte: (Brasil, 2019b)

A legislação brasileira exige o diagnóstico para AIE basicamente de equídeos que serão submetidos ao comércio, trânsito ou participação em eventos. Entretanto, os animais de serviço, que representam a maior parcela do rebanho nacional, normalmente não são testados, além disso o método diagnóstico utilizado nesses levantamentos é a imunodifusão em gel de ágar (IDGA), um teste relativamente pouco sensível. Desse modo, os dados oficiais não representam a real prevalência da doença no país. Existem poucos trabalhos que relatam o *status* da AIE no Brasil, mas apesar da escassez de dados, estima-se que seja alta em algumas regiões. Borges *et al.* (2013) encontraram uma prevalência de 31,5% para AIE entre equídeos no Pantanal mato-grossense. Em Rondônia a prevalência foi de 9,6% (Aguiar *et al.*, 2008), enquanto em Minas Gerais apenas 3,1% e 0,7% dos animais de serviço e de haras, respectivamente, foram soropositivos (Almeida *et al.*, 2006; Almeida *et al.*, 2017). No Mato Grosso, um estudo com 3.858 equídeos de 1.067 propriedades, detectou 17,2% dos rebanhos soropositivos. Em uma avaliação da distribuição espacial, o bioma Pantanal apresentou 36,1% de focos, seguido pelo Cerrado com 18,7% e a Amazônia, com 14,3% das propriedades positivas (Barros *et al.*, 2018). Heinemann *et al.* (2002) detectaram animais positivos em 53% das propriedades visitadas no município de Uruará (Pará). Na Ilha de Marajó, também no estado do Pará, uma pesquisa sorológica realizada nos municípios de Cachoeira do Arari, Salvaterra, Santa Cruz do Arari e Soure revelou que 46,26% (136/294) das amostras foram positivas pelo teste de IDGA (Freitas *et al.*, 2015).

2.2.7. Diagnóstico

O diagnóstico da AIE é completamente dependente de exames laboratoriais, uma vez que maioria dos animais positivos não apresentam sinais evidentes de doença, bem como pela ausência de sinais clínicos patognomônicos (Cook *et al.*, 2013). A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) recomenda os testes de IDGA e ensaio imunoenzimático (ELISA) para o diagnóstico da AIE, sendo que resultados positivos por ELISA devem ser confirmados por

IDGA, devido à maior especificidade deste último. Os testes sorológicos são precisos, simples e confiáveis, exceto em situações específicas, como em estágios iniciais de infecção e em potros nascidos de éguas infectadas. De forma alternativa ou complementar ao IDGA, os resultados positivos no ELISA também podem ser confirmados por immunoblot (OIE, 2019).

Em circunstâncias em que a sorologia não é adequada, recomenda-se o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) e até mesmo do isolamento viral. Entretanto, o isolamento é extremamente complexo e raro, devido à dificuldade, custo e tempo gasto para o cultivo primário de monócitos/macrófagos, o que torna essa técnica inviável para uso em rotina (Cook *et al.*, 2013; OIE, 2018). Situações em que a PCR pode ser utilizada incluem: resultados conflitantes em testes sorológicos ou como confirmatório de resultado positivo, infecção suspeita com sorologia negativa, infecção em estágio inicial, em potros nascidos de éguas positivas e para garantir que cavalos doadores de sangue ou utilizados para produção de antissoro e vacinas estejam livres do vírus (OIE, 2018). As indicações para cada teste disponível estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Testes disponíveis para o diagnóstico da AIE e a aplicação recomendada

Método	Proposta				
	População livre da infecção	Animal individual livre da infecção antes do trânsito	Contribuir para políticas de erradicação	Confirmação de casos clínicos	Prevalência da infecção - vigilância
Identificação do agente					
PCR	-	+/-	-	+/-	-
Isolamento viral	-	-	-	+	-
Detecção da resposta imune					
IDGA	++	++	++	++	++
ELISA	++	++	++	+	+
Immunoblot	-	++	++	++	-

Interpretação: ++: método recomendado, mas pode precisar de validação adicional; +: pode ser usado em algumas situações, mas custo, confiabilidade e outros fatores limitam sua aplicação; -: não apropriado; +/-: questionável, pode não funcionar em todas as situações. Embora nem todos os testes listados na categoria ++ tenham sido submetidos a validação formal, por sua natureza rotineira e por terem sido amplamente utilizados sem resultados duvidosos, são considerados aceitáveis.

¹Recomenda-se uma combinação de métodos aplicados na mesma amostra clínica.

Fonte: (OIE, 2019)

O IDGA tem aceitação internacional e é o teste de referência para o comércio internacional e movimentação de animais (Van Maanen, 2013). Foi desenvolvido por Coggins *et al* (1972) para a detecção de anticorpos contra a proteína p26. As primeiras preparações de

antígeno foram feitas a partir de baço de cavalos infectados e posteriormente por cultivo celular, mas, atualmente, a maioria dos kits utilizam proteína p26 recombinante, que apresentam resultados mais uniformes e linhas mais nítidas, melhorando a precisão da leitura. Há diversos kits de ELISA internacionais licenciados para o diagnóstico da AIE, a maioria tem como alvo anticorpos anti-p26 e em menor frequência anti-gp45 (Cook *et al.*, 2013). Estudos já demonstraram que a resposta imune humoral é direcionada predominantemente contra gp90 e gp45 (Ball *et al.*, 1992; Rwambo *et al.*, 1990), sendo que gp45 é uma proteína menor e com menos variação do que gp90, por esse motivo é comumente mais utilizada como antígeno em alguns testes (Malossi *et al.*, 2020).

O IDGA é um teste de fácil execução e é o único que já provou ser correlacionado com a presença do vírus no animal (Coggin *et al.*, 1972). Embora seja altamente específico, necessita de concentrações de antígeno relativamente altas para a formação de linha de precipitação visível, o que resulta em uma sensibilidade reduzida quando comparado a outros métodos mais recentes. Além disso, há demora e subjetividade na realização da leitura, que podem ocasionar erros de interpretação, sobretudo em animais com fraca resposta imunológica, o que tem levantado certos questionamentos sobre sua eficiência como teste oficial para diagnóstico da AIE (Issel *et al.*, 2012; Scicluna *et al.*, 2013). Um cavalo experimentalmente infectado com a estirpe EIAV_{WYOMING} teve anticorpos contra gp45 e gp90 detectáveis por ELISA após 10 dias de infecção, entretanto, o IDGA não foi capaz de detectar anticorpos mesmo após 18 dias (Naves *et al.*, 2019). Normalmente os animais podem levar até 45 dias para se tornarem positivos por esse método, em casos mais raros, há relatos de que a soroconversão só tenha ocorrido entre 119 e 157 dias (Cullinane *et al.*, 2007; Cook *et al.*, 2018).

Como parte de um programa de vigilância nacional, 96.468 amostras coletadas durante 2007-2010 na Itália foram submetidas a um ELISA competitivo e ao IDGA, ambos para a detecção de anti-p26. Desse total, 331 foram positivas no ELISA competitivo, das quais 124 também foram positivas por IDGA. As 207 amostras com resultados discordantes entre os dois métodos foram submetidas ao immunoblot, que detectou 25 amostras positivas. No total, 149 amostras eram verdadeiramente positivas (124 + 25), portanto, 17% (25/149) das amostras foram erroneamente classificadas como negativas pelo IDGA (Issel *et al.*, 2012).

Na Itália, em 2011, o laboratório de referência para AIE (*Centro di Referenza Nazionale per l'Anemia Infettiva degli Equini - CRAIE*) incluiu o immunoblot na rotina de diagnóstico, utilizando-o como confirmatório dos resultados discordantes entre ELISA e IDGA. O esquema de diagnóstico em três níveis é baseado no uso do ELISA, altamente sensível, como teste de triagem (nível 1), seguido pelo IDGA, altamente específico, como confirmatório (nível 2), e

por último o immunoblot, para determinar o resultado final em casos discordantes entre ELISA e IDGA (nível 3) (Issel *et al.*, 2012; Reis and Cook, 2014). O immunoblot é capaz de detectar anticorpos contra as três proteínas estruturais do vírus, o que o torna altamente sensível. O resultado é considerado positivo quando o soro reage simultaneamente contra a p26 e gp45, p26 e gp90 ou contra os três antígenos ao mesmo tempo, o que aumenta sua especificidade e reduz drasticamente a possibilidade de um resultado falso positivo. Recentemente esse immunoblot foi validado como teste complementar em acordo com os padrões da OIE, com a adição de um leitor digital que aumentou a precisão dos resultados (Scicluna *et al.*, 2019).

Apesar de eficientes, técnicas sorológicas têm como principal desvantagem a incapacidade de detectar positivos durante a janela imunológica (Cook *et al.*, 2013). Além disso, alguns equídeos expostos não desenvolvem resposta humoral detectável mesmo após longos períodos, seja por ELISA ou IDGA (Ricotti *et al.*, 2016). Logo, os testes moleculares apresentam uma vantagem significativa em termos de detecção precoce em relação às técnicas sorológicas. Entretanto, pode haver limitações relacionadas à sensibilidade do ensaio, uma vez que portadores inaparentes mantêm cargas virais associadas ao sangue e tecidos extremamente baixos, que podem estar abaixo do limite de detecção dos ensaios baseados em PCR. Além disso, as sequências do EIAV são altamente variáveis entre isolados de diferentes regiões geográficas e até mesmo em um único hospedeiro infectado, onde o vírus sofre mutações significativas ao longo do tempo gerando uma ampla população de *quasispecies*. Essa variabilidade resulta na perda de sensibilidade da PCR e até mesmo impede a amplificação em casos de variação nas sequências de ligação do *primer* (Cook *et al.*, 2013; Issel *et al.*, 2014). Em um estudo, duas diferentes PCR's para a região conservada 5'UTR apresentaram sensibilidade entre 40-50% em relação ao IDGA, quando testados os mesmos animais. Concluiu-se que embora a PCR não seja suficientemente sensível para substituir o IDGA, pode ser usada para identificar infecção recente ou equinos sorologicamente silenciosos (Cook *et al.*, 2018).

Há controvérsias quanto à aplicabilidade de cada teste de diagnóstico, pois apresentam vantagens e desvantagens específicas para cada situação. No caso da PCR, para que possa ser implementada na rotina, é necessário que os *primers* sejam capazes de detectar as diferentes estirpes em circulação, entretanto, a alta variabilidade prejudica o estabelecimento de *primers* universais. Além disso, há poucos isolados do EIAV disponíveis (Tab. 4), portanto, a extensão da variação genética do vírus não é bem conhecida e caracterizada, o que dificulta saber quais regiões do genoma não estão sujeitas a mutações, mesmo as mais conservadas, como o gene *pol*. Assim, embora seja uma abordagem indireta e com limitações relacionadas à detecção

precoce da infecção, os métodos sorológicos são a única opção viável até momento para o diagnóstico da AIE (Cook *et al.*, 2013; Issel *et al.*, 2014).

Tabela 4. Sequências de genoma completo do EIAV disponíveis

Origem	Referência
Wyoming/EUA	(Petropoulos, 1997)
Liaoning/China	(Tu <i>et al.</i> , 2007)
Miyazaki/Japão	(Dong <i>et al.</i> , 2013)
Irlanda	(Quinlivan <i>et al.</i> , 2013)
Itália	(Cappelli <i>et al.</i> , 2017)
Devon e Cornwall/Inglaterra	(Dorey-Robinson <i>et al.</i> , 2019)
França	(Deshiere <i>et al.</i> , 2019)
Poconé/Brasil	(Malossi <i>et al.</i> , 2020)

2.2.8. Controle da AIE no Brasil

Está em vigor atualmente no Brasil a Instrução Normativa nº45 de 15 de junho de 2004 sobre as Normas para a Prevenção e Controle da AIE. Durante muito tempo, somente o IDGA foi reconhecido oficialmente para o diagnóstico da doença, entretanto, há poucos anos foi anexada a Portaria nº 378, de 17 de dezembro de 2014, permitindo o uso do teste de ELISA, devidamente registrado pelo MAPA (Brasil, 2004; Brasil, 2014). Recentemente, a Portaria 378 e o artigo 15 da IN nº 45 foram revogados pela IN nº52 de 26 de novembro de 2018, que apresenta mais detalhes e informações sobre a execução dos testes de diagnóstico e procedimentos para o credenciamento de laboratórios (Brasil, 2018).

Conforme a IN nº52, o ELISA é utilizado para triagem e o IDGA como teste confirmatório dos resultados positivos no ELISA. Ao contrário dos EUA e Itália, no Brasil não há regulamentação para o uso de um teste complementar, portanto, mesmo em caso de discordância entre os métodos, prevalece o resultado do IDGA (Brasil, 2018).

O teste para AIE é obrigatório para animais que serão submetidos ao trânsito interestadual (exceto quando destinados ao abate), participação em eventos agropecuários e para ingresso em Território Nacional. O resultado negativo tem validade de 180 dias para propriedades controladas (aquelas em que todos os equídeos apresentam resultados negativos por dois testes consecutivos) e de 60 dias para os demais casos. Potros com menos de 6 meses de idade acompanhados de mães negativas não precisam ser testados (Brasil, 2004).

Em caso de foco, a propriedade de origem do equídeo positivo deve ser interditada e todos os animais devem ser testados, a desinterdição ocorrerá após dois exames negativos

consecutivos de todo o rebanho, realizados com 30 e 60 dias. Quando houver resultado positivo, o proprietário pode requerer contraprova ou reteste, nesse caso o animal deve permanecer isolado até a classificação final. A conduta adotada para equídeos positivos geralmente é a eutanásia, mas de acordo com as condições epidemiológicas específicas de cada região, o isolamento é permitido para animais localizados em área de alto risco (endêmicas), quando estabelecido pela Comissão Estadual para o Controle da Anemia Infecciosa Equina (CECAIE) da respectiva Unidade Federativa, e os portadores da doença devem ser permanentemente marcados. Tais animais ficam proibidos de transitar e caso o equídeo marcado seja encontrado fora da propriedade de origem (exceto para fins de abate), ele será eutanasiado (Brasil, 2004).

No Pantanal sul-mato-grossense, onde a prevalência da AIE é muito alta, o isolamento dos positivos é permitido por lei, uma vez que seria economicamente inviável realizar o abate sanitário de todos os positivos na região, pois comprometeria a pecuária extensiva, dependente dos cavalos principalmente em épocas de cheia (Reis and Cook, 2014).

O Programa de Controle e Prevenção da AIE no Pantanal Sul-mato-grossense (CAIEPAN), proposto pela Embrapa Pantanal e pela CECAIE do Estado de Mato Grosso do Sul, preconiza o diagnóstico inicial de todos os equídeos da propriedade, seguido pela segregação dos animais negativos em piquetes a uma distância de segurança de 200 metros, para impedir a transmissão mecânica pelos vetores. O grupo negativo deve ser retestado a cada três a quatro meses. Em caso de resultado positivo, o animal deve ser realocado para o rebanho de positivos. Após dois resultados negativos consecutivos, o monitoramento pode ser feito a cada seis meses. O programa também recomenda o desmame aos seis meses de idade, para a obtenção de potros negativos nascidos de éguas positivas. O desmame não deve ser realizado mais tarde, uma vez que a atratividade dos potros em relação aos vetores aumenta com a idade e pelo maior tempo de exposição junto ao rebanho positivo. Os potros desmamados devem ser isolados e testados na mesma época do grupo negativo, após dois resultados negativos consecutivos, podem ser incorporados no devido rebanho (Silva *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2004).

2.2.9. Controle da AIE em outros países

A AIE começou a ser relatada na China a partir da década de 1950 e, inicialmente, o controle da doença era baseado apenas no diagnóstico clínico. De 1974 a 1978, foram introduzidos os testes de fixação do complemento (FC) e o IDGA, e os animais soropositivos eram eutanasiados ou mantidos em quarentena, dependendo da regulamentação local (Wang *et*

al., 2018). Em 1979 foi implementado ELISA para detecção de anticorpos anti-p26 (Shen *et al.*, 1984).

Uma vacina contra a AIE, baseada em vírus vivo atenuado em leucócitos de jumento, foi desenvolvida em 1975, no *Harbin Veterinary Research Institute*, referência em AIE (HRVI, 2015). A partir de 1976, a vacina (estirpe vacinal EIAV_{FDDV13}) foi implementada em um programa de controle integrado à quarentena e mais de 70 milhões de equídeos foram vacinados. Os cientistas chineses afirmam que a estratégia foi efetiva e teve sucesso até mesmo em erradicar o EIAV em algumas regiões. Em 1976, foram detectados 87.760 positivos em 15.236 focos de surto, já em 1990, após os esforços, o número de positivos caiu para 820 em apenas 36 focos (Wang *et al.*, 2018).

Com a queda na prevalência e a impossibilidade de distinção entre os animais vacinados e naturalmente infectados, a vacinação foi suspensa na década de 1990 e a estratégia de controle passou a ser baseada em teste, quarentena e eutanásia dos positivos (Wang *et al.*, 2018; OIE, 2019). Foi emitido um “Plano Nacional de Médio e Longo Prazo para Controle de Doenças Animais (2012-2020)” que tinha como um dos principais objetivos erradicar a AIE em todo o país até 2020 (FFTC, 2014), mas até o momento não foram disponibilizados os resultados dessa empreitada.

Na Itália o IDGA é utilizado desde 1976, sendo realizado pelo *Istituti Zooprofilattici Sperimentali* (IZS) territorialmente competente, e os animais positivos colocados em quarentena. Após o surgimento de alguns surtos de AIE, foi implementada a *Ordinanza Ministeriale* 14/11/2006, a fim de verificar a real prevalência da doença na população de equídeos da Itália, bem como a adoção de medidas de controle sanitário em todo o território nacional. O regulamento determinou o teste sorológico de toda a população nacional de equídeos com idade superior a três meses, com exceção de animais criados exclusivamente para abate, para fins de consumo. Os animais positivos deveriam ser isolados sob condições específicas de biossegurança até a morte ou abate (IZSTO, 2021; Itália, 2006). Atualmente está em vigor o Plano Nacional de Vigilância da AIE de 02/02/16 (Itália, 2016).

Após serem testadas pelo IZS territorialmente competente, as amostras positivas são enviadas para o CRAIE, no IZS da região Lazio e Toscana. No período de 2007-2011, os IZSs analisaram 1.141.643 amostras por ELISA e IDGA, das quais 2.255 foram submetidas a confirmação pelo CRAIE. Com a implementação do plano de controle, houve redução de 477 casos em 2007, para 106 em 2011 (IZSLT, 2011). Desde essa data, o CRAIE incluiu o immunoblot na rotina de diagnóstico, aplicando-o como confirmatório dos resultados discordantes entre ELISA e IDGA. Atualmente a legislação considera como caso suspeito o

animal negativo no IDGA e positivo no imunoblot, entretanto, os pesquisadores afirmam que, baseados na eficiência já comprovada desse teste complementar, a regulamentação deveria considerar esse caso específico como positivo, uma vez que um caso suspeito é equivalente a um animal positivo no IDGA, em termos de risco de transmissão da doença (Scicluna *et al.*, 2019).

Nos EUA, o IDGA tem sido utilizado para diagnóstico da AIE desde 1972 (USDA, 2006). Atualmente, o *United States Department Of Agriculture* (USDA) reconhece também vários formatos de ELISA como testes oficiais para a realização dos exames. Os resultados positivos no ELISA devem ser confirmados por IDGA e um teste suplementar pode ser utilizado em caso de discordância entre os dois primeiros testes. O imunoblot não é reconhecido como teste oficial, mas pode ser adotado para resolver esses casos, sendo aprovado para ser conduzido apenas no *National Veterinary Services Laboratories*, em Iowa e no Laboratório de Referência para AIE da Universidade de Kentucky, ambos reconhecidos nacionalmente como referência para a pesquisa nesse campo.

As principais ações regulatórias para controle da AIE nos EUA são estaduais, mas, para uniformizar a conduta dos estados e facilitar o desenvolvimento de um programa de controle, o USDA criou em 2002 o *Equine Infectious Anemia: Uniform Methods and Rules* (UM&R). A versão mais recente desse documento que está em vigor atualmente é a de 2007 (USDA, 2006; USDA, 2020). Uma vez que um equino foi diagnosticado como positivo, ele deve ser eutanasiado, abatido ou colocado em isolamento nas instalações de origem, dependendo da regulamentação estadual (USDA, 2007).

Desde que os esforços para controle da AIE nos EUA começaram, há mais de 40 anos, a taxa de positivos entre os animais testados caiu de 4% em 1975, para 0,01% em 2005 e para 0,004% em 2017 (USDA, 2006; USDA, 2020). O *Animal and Plant Health Inspection Service* (APHIS), do USDA, e o Serviço Veterinário afirmam que a redução do número de casos se estabilizou nos últimos anos e que alguns estados carecem de recursos para controlar adequadamente os surtos de doenças dos equídeos (USDA, 2016).

3. CAPÍTULO 2. Proposta para controle da AIE em uma propriedade na Ilha de Marajó

Resumo

A Ilha de Marajó, na Amazônia brasileira, concentra uma população de aproximadamente 30 mil equídeos domésticos e selvagens, incluindo os cavalos Marajoara e Puruca, altamente especializados às adversidades climáticas e territoriais. A anemia infecciosa equina (AIE), transmitida predominantemente de forma horizontal por fômites e picada de insetos hematófagos, é uma das doenças que assola estes animais. Apesar da escassez de dados, há fortes indícios de que AIE esteja presente em alta prevalência na Ilha, uma condição que dificulta o método tradicional de controle que é a eutanásia dos positivos. Considerando a importância social e econômica dos cavalos na região e a necessidade de conservação das raças Marajoara e Puruca, atualmente em risco de extinção, o objetivo desse trabalho foi estabelecer uma metodologia de controle da doença, baseada em testes periódicos do rebanho, segregação dos positivos e boas práticas de manejo. Durante dois anos foram realizadas cinco coletas de um rebanho pertencente a uma propriedade rural, representativa da Ilha, localizada no município de Soure. Amostras de animais com idade superior a 6 meses foram submetidas à dois testes sorológicos em série (ELISA_{gpg45} como triagem e IDGA como confirmatório) e todos os reagentes foram realocados para outra propriedade constituída somente por animais positivos. A prevalência inicial na propriedade foi de 27,09% (97/358) e ao final do estudo a taxa de positividade foi reduzida para 0,36% (1/274). Apesar da alta prevalência e das condições ambientais favoráveis a manutenção de grandes populações de insetos vetores, os resultados obtidos mostram que é possível controlar a disseminação da AIE na região Amazônica, preconizando o monitoramento sorológico periódico e segregação dos soropositivos, alternativamente ao abate sanitário.

Palavras-chave: Anemia infecciosa equina, controle, segregação, região Amazônica

3.1. Introdução

A Ilha de Marajó, localizada no extremo norte do Pará (Brasil) constitui-se numa das regiões mais ricas do Brasil em termos de recursos hídricos e biológicos. Situada na Amazônia, a região é caracterizada por clima equatorial, quente e úmido, com ciclos anuais de secas e inundações, quando aproximadamente dois terços do território ficam alagados (FUNDAJ,

2014). A economia local é essencialmente primária, com destaque para a atividade pecuária, com cerca de 22,8% do território destinado a essa prática (Brasil, 2007).

Em geral, a pecuária marajoara emprega baixa tecnologia no processo produtivo, o que determina sistemas extensivos de produção, portanto os cavalos têm um papel fundamental no desenvolvimento desta atividade, além de serem parte indissociável das relações socioculturais da região (Marques *et al.*, 2016). Dados preliminares estimam o efetivo marajoara em 28.744 equinos, e destes, 6.892 encontram-se no município de Soure, localizado na costa oriental da Ilha (IBGE, 2019). Devido à alta resistência ao território alagadiço, força, rusticidade e versatilidade, os cavalos das raças Marajoara e Puruca, originados na Ilha de Marajó, são altamente adaptados as condições climáticas adversas locais e são fundamentais no manejo extensivo dos rebanhos bovino e bubalino, para suprir as necessidades do trabalho de campo e transporte, com baixo custo operacional, além de apresentar um perfil adequado para o desenvolvimento de atividades como turismo, esporte e lazer (Costa, 2008; Marques *et al.*, 2016).

A AIE, provocada pelo *Equine infectious anemia virus* (EIAV), é de grande importância para indústria de equídeos e possui distribuição mundial (OIE, 2019), porém no Brasil poucos trabalhos relatam o *status* da doença e atualmente ainda não se tem dados reais sobre a prevalência geral no país, que é subnotificada. Apesar da escassez de dados, o Pará está entre os estados com maior número de casos notificados ao MAPA (Brasil, 2019b) e estima-se que a prevalência seja alta em algumas regiões. Heinemann *et al* (2002) detectaram animais positivos em 53% das propriedades visitadas no município de Uruará. Na Ilha de Marajó, uma pesquisa sorológica em quatro municípios revelou que 46,26% das amostras foram positivas (Freitas *et al.*, 2015).

O controle da doença é dependente da quebra do ciclo de transmissão, que se dá de forma mecânica pela picada de insetos hematófagos, principalmente membros da família Tabanidae, e pela via iatrogênica. De acordo com a regulamentação, o diagnóstico deve ser realizado por teste de ELISA para triagem, seguido por IDGA como confirmatório dos positivos no ELISA, prevalecendo o resultado da IDGA em caso de discordância entre os testes. Os animais classificados como positivos devem ser eutanasiados, sem indenização ao proprietário do animal abatido, entretanto as medidas de prevenção e controle devem ser adotadas de acordo com as condições epidemiológicas específicas de cada região (Brasil, 2004; Brasil, 2018).

Considerando os indicativos da alta prevalência da AIE na Ilha de Marajó e a importância da equinocultura, que desempenha um papel determinante para a economia local, a eutanásia de todos os positivos da região seria inviável, pois comprometeria a pecuária

extensiva. Isso traria também impacto significativo em relação a preservação das raças autóctones, que já se encontram em número reduzido e em um severo processo de descaracterização, além de trazer prejuízos socioculturais, devido a estreita relação da população com seus cavalos. Dessa forma, é importante a adoção de medidas de controle da doença na região que leve a uma redução gradativa da prevalência de animais infectados, sem a necessidade de realizar o abate sanitário. Assim, o objetivo desse trabalho foi estabelecer uma metodologia de controle da AIE em uma propriedade representativa da Ilha, localizada no município de Soure, baseada em testes periódicos do rebanho utilizando dois testes sorológicos em série, o ELISAppg45 (Naves *et al.*, 2019) como triagem e o IDGA como confirmatório, segregação dos positivos e boas práticas de manejo, nas condições dos sistemas de produção do arquipélago.

3.2. Material e métodos

3.2.1. Coleta de amostras

As amostras dos equídeos foram coletadas por médico veterinário em campo, com apoio de funcionários da fazenda, em cinco ocasiões diferentes (Fig. 1), utilizando agulhas individuais para cada animal. O sangue total foi coletado por punção da jugular em tubos sem anticoagulante. Após o processamento, o soro foi transferido para microtubos de 1,5mL, que foram encaminhadas para o Laboratório de Retrovíroses (RetroLab) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sob refrigeração, onde foram armazenadas a -20°C até realização dos testes sorológicos. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG, sob o protocolo 171/2018 (Anexo 1).

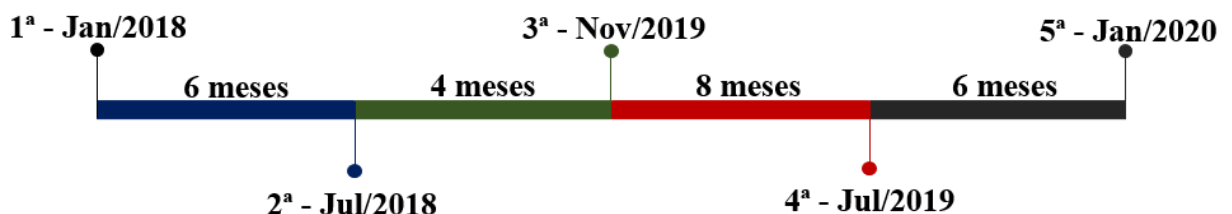


Figura 1. Representação esquemática da data e intervalos de tempos entre as cinco coletas realizadas durante o período experimental de dois anos.

3.2.2. Área de estudo

Os animais do estudo pertenciam a uma propriedade particular rural de aproximadamente 5.000 hectares, composta por cinco retiros interligados por uma estrada vicinal, localizada a 15 km da sede do município de Soure – Ilha de Marajó (Fig. 2). A propriedade faz limite com o oceano Atlântico ao leste, com o rio Paracauari a oeste, e nas extremidades norte e sul, faz fronteira com três produtores rurais. Uma segunda propriedade, pertencente ao mesmo proprietário, foi utilizada para isolar os equídeos com diagnóstico positivo para AIE, localizada do outro lado do rio Paracauari, a cerca de 15 km de distância da primeira, onde foram mantidos os animais negativos. Em ambas as fazendas, havia também criação extensiva de bubalinos, caprinos e ovinos. Assim como a maioria das propriedades da Ilha, as duas encontram-se em uma região periodicamente alagada.

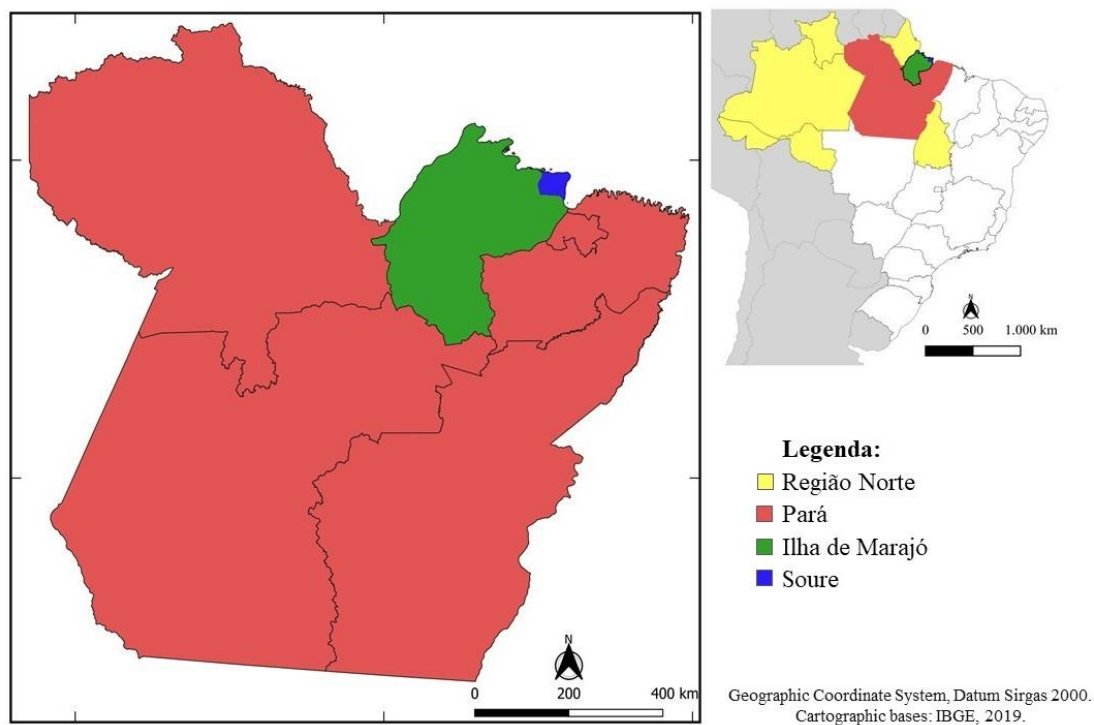


Figura 2. Localização geográfica do município de Soure (azul).

3.2.3. Caracterização do grupo de estudo

O grupo estudado (inicialmente 388 equídeos) era composto por muares, equinos e um asinino, domados e não domados, com idades variáveis e de ambos os sexos, não havendo critérios de exclusão. Uma caracterização do rebanho completo foi realizada por especialista

(zootecnista), durante a qual todos os animais foram microchipados e classificados em relação à faixa etária aproximada, espécie e raça. Todos os equinos possuíam a base genética das raças Marajoara e Puruca, submetidos a mestiçagem com as raças Árabe, Crioulo, Quarto de Milha e Mangalarga Marchador, além dos próprios cruzamentos entre Marajoara e Puruca.

O rebanho era criado em sistema extensivo, onde os equídeos subdividiam-se espontaneamente em grupos de aproximadamente 20 animais, que são famílias formadas por garanhões, matrizes e potros em amamentação e recém-desmamados. Os animais eram criados em liberdade durante todo o ano e praticamente não havia interferência humana. Eles não recebiam complemento de dieta e mistura mineral, não eram vacinados e raramente eram manipulados, por isso, considera-se que eram criados em estado semisselvagem. As manipulações ocorriam somente para marcação a ferro (uma vez em toda a vida) e nas ocasiões de coleta de amostras biológicas. Uma menor parcela do rebanho era composta por equídeos de serviço, cavalaria e reserva, como são regionalmente classificados. A cavalaria constituía-se de equinos machos e muares, selecionados anualmente, em fase de doma ou que ainda seriam domados, para serem incorporados ao grupo de serviço ou comercializados. Os reservas são candidatos à garanhões, mas inicialmente utilizados como animal de serviço para serem testados quanto às suas habilidades de montaria. Assim como os animais semisselvagens, estes também não recebiam suplementação alimentar e não eram submetidos a nenhum esquema vacinal.

3.2.4. Identificação dos animais

Todos os equídeos receberam um microchip subcutâneo (2 mm de diâmetro x 12 mm de comprimento), encapsulado em biovidro, com cobertura antimigratória, que foi inserido do lado esquerdo, no terço médio do ligamento da nuca. A implantação dos microchips foi realizada por médico veterinário, utilizando uma agulha individual a cada aplicação.

3.2.5. Diagnóstico sorológico

Todas as amostras foram inicialmente submetidas a um ELISA indireto para a detecção de anticorpos contra a proteína transmembrana gp45 do envelope viral, o ELISA pgp45 (Naves *et al.*, 2019). Uma placa (Nunc-Immuno Plate Maxisorp, USA) foi adsorvida com 0,5µg/100µL/poço do antígeno diluído em tampão carbonato/bicarbonato 50mM (pH 9,6). Após incubação overnight a 4°C, foi feito bloqueio por uma hora em temperatura ambiente

(T.A.) com solução salina tamponada com fosfato pH 7,0 (PBS) contendo Tween 20 a 0,01% (PBS-Tween), acrescida de 5% de leite em pó desnatado. Soros controle positivo, negativo e soros teste foram adicionados (100µL/poço) na diluição 1:100, em duplicata e incubados por uma hora em T.A. Foi adicionado 100µL/poço do conjugado anti-IgG equino marcado com peroxidase (Sigma-Aldrich, USA) na diluição de 1:5.000 e após novo período de incubação por uma hora em T.A., a reação foi revelada com substrato o-phenylenediamine (OPD) a 0,5mg/mL mais 0,02% de H₂O₂ 30 volumes em tampão citrato-fosfato (pH 5,0), seguida da interrupção com ácido sulfúrico 1N. Foram realizadas três lavagens com 200µL/poço de PBS-Tween entre todas as etapas, exceto após a adição do substrato. A leitura das reações foi realizada em leitor de ELISA (BioTek ELx800, USA) em comprimento de onda de 492nm. Após normatização das leituras, de acordo com as leituras dos controles em cada placa, as amostras com densidade óptica acima 0,251 foram consideradas positivas, conforme padronização prévia.

As amostras positivas no ELISA pgp45 foram submetidas ao teste de IDGA (Laboratório Bruch, Brasil) para a detecção de anticorpos contra a proteína p26, do capsídeo viral, conforme recomendado pela IN nº 52 de 2018 (Brasil, 2018). O protocolo foi executado seguindo as recomendações do fabricante. Resumidamente, lâminas de microscopia foram preenchidas com solução de agarose 1% em tampão borato pH 8.6. Após solidificação, o gel foi perfurado e foram adicionadas as amostras, controle positivo e antígeno. A leitura foi realizada após 48 horas de incubação em câmara úmida a temperatura ambiente.

3.2.6. Segregação e monitoramento

Após o diagnóstico laboratorial, os equídeos com resultado positivo em ambos os testes sorológicos, ELISA e IDGA, foram separados dos animais negativos. Os positivos foram realocados para outra propriedade, formando um rebanho de positivos e outro somente de animais negativos. Uma vez que a infecção pelo EIAV é persistente, somente o rebanho dos negativos foi submetido a novos testes, além dos potros nascidos no grupo dos positivos, os quais foram transferidos para o grupo negativo após apresentarem dois resultados negativos consecutivos. Em caso de resultado positivo, apenas aqueles com sete meses de idade ou mais foram considerados infectados, devido a possível influência de anticorpos maternos. Os equídeos positivos foram mantidos em isolamento e continuaram sendo utilizados na rotina de trabalho da propriedade positiva. Não foi realizada a marcação específica para portadores de AIE, mas foi fortemente recomendado que os mesmos não deixassem a propriedade em nenhuma circunstância até a morte ou abate. Novos animais adquiridos permaneceram na

propriedade de estudo, em uma área cercada e afastada (aproximadamente 2 km de distância), e só foram incorporados ao rebanho após dois resultados negativos consecutivos.

3.2.7. Manejo

Os funcionários das propriedades (positiva e negativa) foram capacitados para as boas práticas de manejo em equideotecnia, para que eles se habituassem às práticas de coleta e ao manejo sanitário. Foram realizadas reuniões, com informações sobre a doença, suas formas de transmissão e a importância da educação sanitária no seu controle. Foi proibida a permanência de animais externos à propriedade e os funcionários foram instruídos a fazer uma “verificação” diária dos equídeos, para se ter um melhor controle da situação do rebanho, como data de nascimento, número de óbitos e animais feridos.

3.2.8. Análise estatística

A regressão logística é comumente usada em epidemiologia para analisar fatores de risco em estudos de prevalência por meio da Razão de Chances (ODDS RATIO). Inicialmente, foi realizada análise univariada para testar a associação das variáveis independentes (Tab. 1) com a variável dependente (animal positivo para AIE). Aqueles com valor de $p < 0,15$ foram consideradas para a análise multivariada. Para a análise multivariada, foi utilizado o método stepwise, com seleção reversa, onde todos os preditores são inseridos no modelo e os menos contributivos são removidos até que todas as covariáveis fossem significativas ($p < 0,05$). As variáveis foram testadas para possíveis interações e fatores de confusão.

As interações foram analisadas por meio da relevância biológica com a entrada e saída das variáveis dependentes no modelo. O controle das variáveis de confusão foi realizado, retirando cada variável do modelo e verificando o impacto no coeficiente das restantes. Variáveis que impactam mais de 20% dos coeficientes das variáveis restantes no modelo devem ser removidas (Dohoo *et al.*, 2003). Foi calculado também o Intervalo de Confiança (I.C.: 95%) da prevalência obtida em cada uma das cinco coletas realizadas durante o período experimental. Todas as análises foram realizadas utilizando o software Stata 11 (StataCorp. 2009. Stata Statistical Software: Release 11. College Station, TX: StataCorp LP).

Tabela 1: Variáveis utilizadas na análise estatística

Variáveis	Agrupamento
Sexo	Macho

Faixa etária	Fêmea
	7 – 24 meses
	3 – 6 anos
	7 – 10 anos
	11 a 15 anos
	16 anos ou mais
Tipo de Manejo	Cavalaria
	Reserva
	Semisselvagem
	Serviço

3.3. Resultados

O estudo teve duração de dois anos e neste período foram realizadas cinco coletas: janeiro/2018, julho/2018, novembro/2018, julho/2019 e janeiro/2020. Na primeira visita foram coletadas 388 amostras. Do total, havia 30 potros com idade igual ou inferior a seis meses, todos semisselvagens, incluindo Marajoaras, Purucas e mestiços, machos e fêmeas. O animal mais velho do rebanho foi uma mula da cavalaria, de 30 anos, a única desta idade, o restante tinha entre zero e 20 anos, sendo que a maior parte possuía de sete meses a seis anos de idade. A composição etária inicial do rebanho está representada na Figura 3.

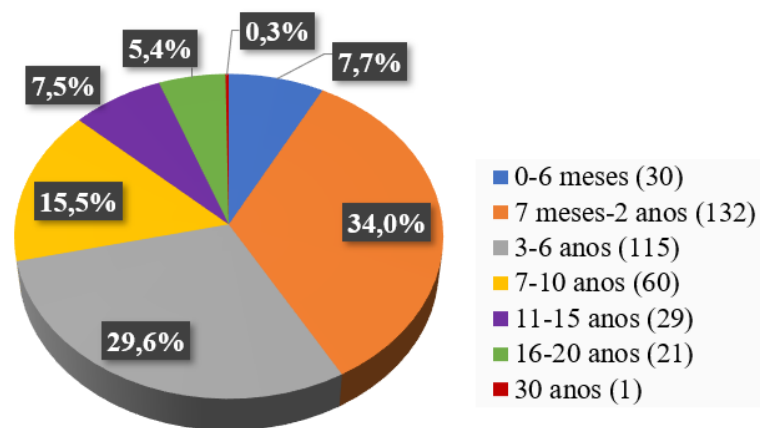


Figura 3. Estrutura etária do rebanho (n=388) em janeiro/2018. O número entre parênteses, na legenda, representa o n em cada agrupamento.

Devido a influência de anticorpos maternos, os potros com \leq seis meses de idade foram excluídos das análises, assim o grupo de estudo inicial passou a ser constituído por 358 animais. A maior parte do grupo era composto por animais semisselvagens (n=229) e/ou mestiços (n=174). No rebanho havia apenas um jumento, da raça Pêga, garanhão, semisselvagem, com quatro anos de idade na data da primeira coleta (Fig. 4).

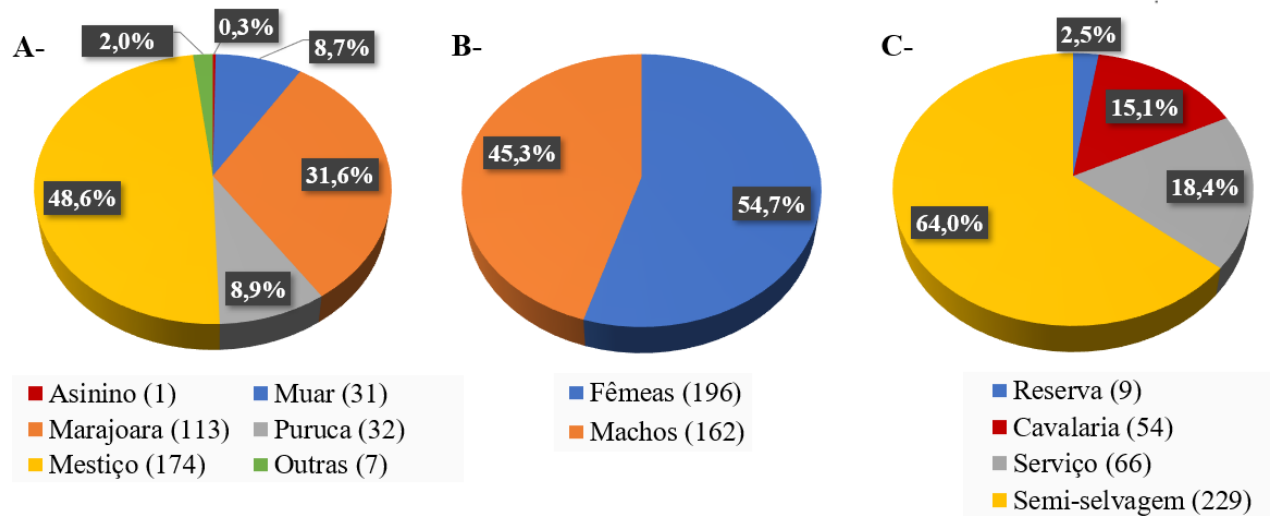


Figura 4. Composição do rebanho, incluindo apenas animais ≥ 7 meses de idade ($n=358$), em janeiro/2018, em relação a raça/espécie (A), sexo (B) e tipo de manejo (C). O número entre parênteses, na legenda, representa o n em cada agrupamento.

Dos 358 equídeos, 36,59% (131) foram positivos no ELISApp45 e 27,09% (97) foram confirmados por IDGA. Dos animais com resultados discordantes entre o ELISApp45 e o IDGA, 22 foram amostrados na coleta seguinte, dos quais três apresentaram resultados positivos em ambos os métodos na testagem posterior, indicando a capacidade do ELISApp45 em identificar 13,63% de positivos a mais do que o IDGA. Dos positivos, 52,6% (51/97) eram semisselvagens, 33% (32/97) eram de serviço, 52,6% (51/97) eram mestiços (52,6%), a maior parte com idade entre três a 10 anos (Fig. 5).

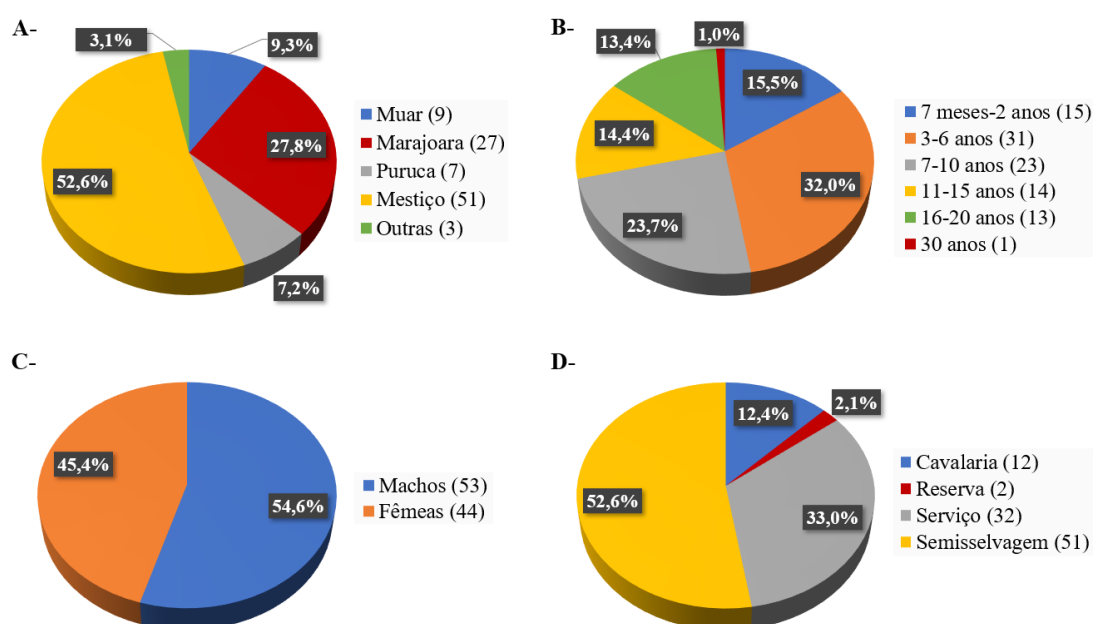


Figura 5. Caracterização dos positivos ($n=97$) em janeiro/2018 em relação a raça/espécie (A), faixa etária (B), sexo (C) e tipo de manejo (D). O número entre parênteses, na legenda, representa o n em cada agrupamento.

Dentre as diferentes variáveis, o modelo de regressão logística (Tab. 2) revelou uma interação entre o sexo dos animais e a categoria de serviço. Tendo como base line (comparação) as fêmeas que não eram de serviço. Os animais machos da categoria de serviço apresentaram maior chance de se infectarem (O.R.: 2,50; I.C.: 1,29 – 4,83; $p=0,006$), enquanto fêmeas de serviço não diferiram de fêmeas ($p=0,488$) e de machos ($p=0,455$) que recebiam outro tipo de manejo. Em relação as diferentes categorias de idade dos animais, os equídeos jovens, com idade entre 7 e 24 meses, apresentaram menor chance de estarem infectados (O.R.: 0,34; I.C.: 0,17 – 0,66; $p=0,002$), já adultos entre 11 e 15 anos de idade (O.R.: 2,38; I.C.: 1,04 – 5,43; $p=0,04$) e aqueles com mais de 16 anos (O.R.: 3,54; I.C.: 1,36 – 9,21; $p=0,009$) apresentaram maior chance de serem infectados. Não houve associação estatisticamente significativa para as demais variáveis.

Tabela 2. Resultado obtido na análise de regressão logística multivariada considerando as variáveis que apresentaram associação estatisticamente significativa em relação ao risco de infecção pelo EIAV.

Resultados	Odds Ratio	Erro Padrão	Valor Z	Valor P	Intervalo de Confiança 95%	
Sexo/Serviço						
sim ou não						
Fêmea/Sim	0,4512922	0,5173644	-0,69	0,488	0,0477128	4,268555
Macho/Não	1,271083	0,4079122	0,75	0,455	0,6776549	2,38418
Macho/Sim	2,501397	0,8398639	2,73	0,006	1,295343	4,830368
Idade						
7 – 24 meses	0,3423835	0,1159347	-3,17	0,002	0,176314	0,6648732
11 – 15 anos	2,383746	1,00826	2,05	0,040	1,040459	5,461287
> 16 anos	3,542033	1,727001	2,59	0,009	1,362164	9,210344
_cons	0,3327407	0,0739507	-4,95	0,000	0,2152429	0,5143788

Após a primeira testagem do rebanho completo e segregação dos soropositivos, foram realizadas outras quatro coletas (jul/2018, nov/2018, jul/2019 e jan/2020) para o monitoramento do grupo de negativos. Por ser uma propriedade particular que manteve suas atividades usuais durante a realização deste trabalho, como compra e venda de animais, o número de amostras coletadas foi variável ao longo do tempo. Além da comercialização, morte e abate, os equídeos eram criados livremente em grandes extensões territoriais e por essa razão, em poucas situações, alguns animais não foram localizados na data da coleta. Também foram acrescentados em cada testagem potros que adquiriram idade suficiente (\geq sete meses) entre cada uma das ocasiões de coleta. As amostragens das quatro coletas seguintes estão detalhadas na Tabela 3.

Tabela 3. Detalhamento da quantidade de amostras coletadas na 2ª a 5ª coleta.

Coleta	Negativos na coleta anterior	≤ 6 meses na coleta anterior	Candidatos a entrar no rebanho ¹	Não coletados na anterior ²	Coleta não realizada ³	Total coletado
Jul/18	261	30	1	-	39	253
Nov/18	229	35	1	3	7	261
Jul/19	245	23	10	2	27	253
Jan/20	250	50	-	5	31	274

¹ Animais a serem adquiridos pelo proprietário da fazenda. Somente um foi positivo (4ª coleta) e não foi introduzido no rebanho.

² Equídeos que não haviam sido encontrados na data da coleta anterior.

³ Coleta não realizada por motivo de venda, óbito ou eutanásia.

As práticas de manejo sanitário empregadas reduziram significativamente a prevalência de AIE no rebanho estudado. A representação esquemática dos resultados obtidos durante o período experimental está apresentada na Figura 6. No momento da primeira coleta, em jan/2018, a prevalência era de 27,09% (I.C. 95%: 22,55 – 32,01%) e aos seis meses de adoção da proposta, a prevalência foi reduzida em mais da metade, caindo para 9,48% (I.C. 95%: 6,17 – 13,78%). Na terceira coleta, após quatro meses, 6,13% (IC 95%: 3,54 – 9,76%) dos animais foram positivos. A quarta coleta foi realizada após oito meses e mesmo após um período maior, foi observada nova queda significativa na taxa de positividade, correspondente a 1,18% (IC 95%: 0,24 – 3,42%). Ao final de dois anos, durante a quinta e última coleta, somente um animal foi positivo, equivalente a apenas 0,36% (I.C. 95%: 0,009 – 2,01%) de todo o grupo dos negativos.

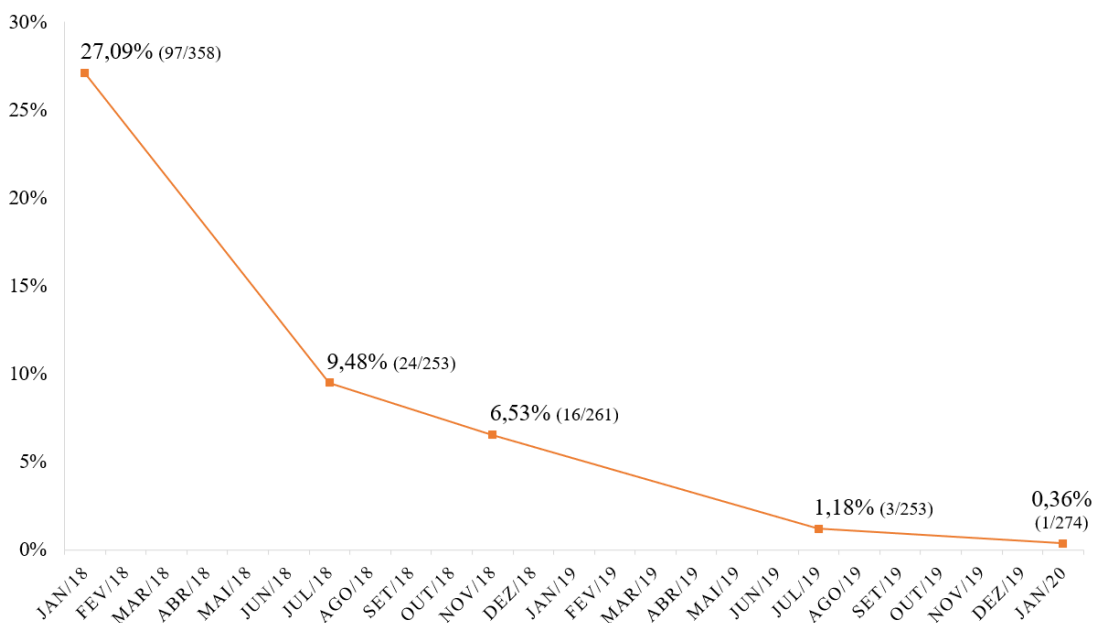


Figura 6. Prevalência da AIE na propriedade durante o período de estudo.

3.4. Discussão

O controle da AIE a partir de testes periódicos e segregação dos soropositivos já havia sido demonstrado anteriormente em um trabalho conduzido no Pantanal, em que a prevalência foi reduzida de 42,7% para zero em três anos, o que levou a criação do Programa de Controle da Anemia Infecciosa Equina no Pantanal sul-mato-grossense (CAIEPAN) (Silva *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2004), todavia, o controle da AIE em equídeos da região Amazônica nunca havia sido demonstrado anteriormente. Neste estudo piloto foi confirmado, pela primeira vez, que a redução gradativa da prevalência da AIE em rebanhos na Ilha de Marajó, sem o abate dos positivos, também é viável, caindo de 27,09% para 0,36% em dois anos. Como a pesquisa foi realizada em uma propriedade particular, que aderiu a proposta, mas sem interromper sua rotina de trabalho, como a comercialização (aquisição e venda) de equídeos e manejo do gado, estes resultados mostram ainda que a metodologia de controle é compatível com o sistema de produção local, sem interferir nas práticas e rotina da propriedade.

Dentre as diferenças em relação ao CAIEPAN, destacam-se os maiores intervalos de monitoramento, a ausência do desmame precoce e de um rebanho constituído somente de potros desmamados, e o uso de dois testes sorológicos em série, o ELISAppg45, com elevada sensibilidade, como triagem e o IDGA de elevada especificidade como confirmatório. A princípio, a proposta era que os equídeos fossem testados inicialmente a cada quatro meses, mas por questões financeiras e de logística, principalmente durante o período chuvoso, onde o acesso à propriedade fica impossibilitado, não foi possível manter essa periodicidade. O desmame precoce dos potros, aos seis meses de idade, conforme preconizado no CAIEPAN (Silva *et al.*, 2004) também não pode ser realizado. Foi relatado pelos funcionários da propriedade que no estado semisselvagem em que são criados a taxa de mortalidade seria muito alta, pois os potros não sobrevivem quando apartados de suas mães muito jovens, dessa forma, o desmame foi realizado de forma natural (aproximadamente aos 10 a 12 meses de idade). Em caso de potro negativo nascido no rebanho de positivos, ele era mantido com a mãe positiva até ter idade suficiente para ser realocado diretamente para o rebanho de negativos (após ter dois resultados negativos consecutivos), sem a formação de um grupo constituído somente por potros recém-desmamados.

Há autores que questionam o uso do IDGA como diagnóstico definitivo da AIE e recomendam um terceiro teste para confirmar os resultados discordantes entre ELISA e IDGA. Utilizando immunoblot, pesquisadores identificaram 17% de falsos negativos por

IDGA, que haviam sido classificados como positivos em um ELISA (Issel *et al.*, 2012). Na Itália, em uma vigilância epidemiológica, 44 amostras positivas por ELISA e imunoblot não reagiram no IDGA (Scicluna *et al.*, 2013). O ELISAppg45 utilizado para triagem neste trabalho foi desenvolvido utilizando um amplo painel de soros de equinos, asininos e muares, e apresentou sensibilidade de 98,6% e especificidade de 95,6% para as três espécies. Durante a padronização, 33 amostras apresentaram resultados discordantes com o IDGA, das quais 81,8% (26/33) foram positivas em ambos, ELISAppg45 e imunoblot (Naves *et al.*, 2019). De fato, neste trabalho o ELISAppg45 foi capaz de identificar mais animais positivos do que o IDGA (36,59% e 27,09% na primeira coleta, respectivamente), mas conforme regulamentação da Instrução Normativa nº45 de 2018, os reagentes no IDGA foram considerados positivos e somente eles foram separados do rebanho. Infelizmente não foi possível realizar o imunoblot para confirmar o diagnóstico, mas baseado nos resultados já publicados anteriormente e na capacidade do ELISAppg45 em detectar precocemente 13,63% a mais de positivos em relação ao IDGA, é provável que alguns animais tenham sido erroneamente classificados como negativos no IDGA, contribuindo para a circulação do EIAV no rebanho negativo e eventual surgimento de novos casos.

A alta prevalência inicial encontrada no rebanho, de 27,09% (I.C. 95%: 22,55 – 32,01%), já era esperada, devido a relatos anteriores (Freitas *et al.*, 2015; Heinemann *et al.*, 2002), a falta de manejo sanitário e às características ambientais favoráveis à manutenção de vetores. Já foi demonstrado anteriormente que regiões com estradas precárias, baixo grau de avanço tecnológico, criação extensiva de gado e carência de assistência veterinária tem maior probabilidade (mais de 10 vezes) de terem prevalência da AIE mais elevada do que em regiões com melhor infraestrutura. Nestes locais os equídeos comumente são utilizados para manejo do gado e como meio de transporte, situações em que o teste para AIE não é obrigatório, o que faz com que o vírus permaneça em circulação (Almeida *et al.*, 2017; Almeida *et al.*, 2006). Todos esses fatores associados ao resultado encontrado indicam que a AIE pode ser endêmica na Ilha de Marajó e que apresente alta prevalência em ambos os equídeos, selvagens e domésticos.

Equídeos machos utilizados para serviço apresentaram maior chance de se infectarem pelo EIAV (O.R.: 2,50; $p=0,006$), enquanto as fêmeas dessa categoria não apresentaram maior probabilidade de infecção. Entretanto, a maior parte da tropa de serviço do grupo estudado era constituída por machos (60/66), o que pode ter influenciado na classificação da variável “sexo macho” como um fator de risco, visto que os machos que recebiam outro tipo de manejo não apresentaram associação estatisticamente significativa. Em relação ao tipo de

manejo, já é bem estabelecido que equídeos de serviço representam um grupo de risco, uma vez que esses animais normalmente se mantêm mais próximos do que aqueles de vida livre, o que facilitaria a transmissão por insetos hematófagos. Além disso, esse grupo de animais é manuseado com maior frequência (Silva *et al.*, 2001; Barros *et al.*, 2018; Almeida *et al.*, 2017). Apesar de praticamente não haver o uso de agulhas, esporas, freios e embocaduras metálicas na propriedade onde o estudo foi realizado, era comum o uso de selas e chicotes, que poderiam ser compartilhados entre os equídeos. O único procedimento realizado, eventualmente, era a castração dos equinos de serviço. Após o início do estudo, o material utilizado na castração passou a ser esterilizado, mas antes disso, não se sabe se os hábitos de higienização/esterilização eram comuns. Isso poderia justificar a ocorrência mais elevada no grupo de serviço e reforça o quanto outros tipos de materiais podem ser significativos na disseminação da AIE, não apenas agulhas. O avanço da idade também já foi identificado anteriormente como outro fator de risco (Silva *et al.*, 2001; Maresca *et al.*, 2012; Borges *et al.*, 2013), em acordo com o resultado aqui encontrado, o que provavelmente está associado ao maior tempo de exposição dos animais mais velhos aos agentes de transmissão.

Apesar de ter sido menor do que entre os animais de serviço, a prevalência de 22,3% (51/229) encontrada entre os semisselvagens foi muito alta, principalmente se considerarmos a ausência de manejo neste grupo. Essa alta taxa de positividade poderia ser atribuída à transmissão pela picada de insetos hematófagos. Pesquisas apontam que fazendas localizadas em áreas regularmente inundadas tem 60 vezes mais chances de ter um animal positivo para o EIAV do que aquelas localizadas em áreas não inundadas, o que corrobora com localização da propriedade e com as condições ecológicas do arquipélago marajoara, como excesso de calor e umidade, que favorecem uma alta densidade de vetores (Borges *et al.*, 2013).

Em um trabalho realizado no município de Corumbá (Mato Grosso do Sul), a prevalência da AIE nos equídeos de serviço praticamente dobrou em 20 anos, mesmo com a implementação do CAIEPAN. A partir de questionários, foi identificado que apenas 38% dos entrevistados tinham conhecimento do programa de controle, além disso, na percepção da maioria, a AIE não era considerada uma ameaça importante. Os autores atribuíram a fraca difusão do programa à falta de políticas públicas de incentivo à adesão ao CAIEPAN (Nogueira *et al.*, 2017). Portanto, em uma possível futura implementação de um programa de controle na Ilha de Marajó, para que haja interesse e adesão da população, é importante o desenvolvimento de uma ação integrada das autoridades, com políticas de incentivo, divulgação, assistência técnica e um extenso trabalho de educação dos cidadãos, para que eles compreendam os impactos econômicos e sanitários da AIE.

Este trabalho também tem uma implicação positiva no que diz respeito à preservação dos cavalos da Amazônia, as raças Marajoara e Puruca, que vem sofrendo um intenso processo de descaracterização em função de cruzamentos desordenados com outras raças introduzidas, colocando-as em risco de extinção, principalmente o Puruca, que atualmente encontra-se com uma população extremamente reduzida e praticamente restrita à Ilha de Marajó. A situação pode ser agravada pela ocorrência de doenças infecciosas, como AIE, que está entre as principais afecções observadas por pesquisadores locais, juntamente com a encefalomielite equina do leste, garrotilho, brucelose, tétano, tripanossomose e outras (EMBRAPA, 2016; Marques *et al.*, 2016). O controle da AIE aumenta a sobrevivência dos cavalos, além de agregar valor e possibilitar a comercialização. Adicionalmente, a implementação de manejo sanitário previne não só a disseminação da AIE, mas de qualquer outra doença infecciosa, melhorando a qualidade do rebanho de forma geral.

3.5. Conclusão

Foi observada redução gradativa e constante da prevalência da AIE no rebanho estudado. Dessa forma, conclui-se que é possível controlar a disseminação da AIE através de monitoramento sorológico periódico, utilizando o ELISA como triagem e o IDGA como confirmatório, seguido da segregação dos positivos, respeitando as práticas de manejo e as especificidades locais. Os resultados obtidos são promissores e abrem portas para que novos trabalhos sejam realizados, abrangendo outras populações de equídeos de outras localidades da Ilha de Marajó, entretanto os desafios da implementação de um programa de controle devem ser levados em consideração, para que haja ampla difusão e adesão dos criadores à proposta.

4. CAPÍTULO 3: Baixa taxa de transmissão do EIAV para potros nascidos de éguas ferais soropositivas na Amazonia Brasileira, apesar das condições climáticas favoráveis a grandes populações de insetos vetores.

Resumo

Na Ilha de Marajó (Pará), localizada na foz Rio Amazonas, existem numerosos bandos de cavalos selvagens, incluindo o Marajoara, uma raça geneticamente distinta. Aproximadamente 40% dos equídeos da Ilha estão infectados com o *Equine Infectious Anemia Virus* (EIAV) e na ausência de transmissão iatrogênica, a disseminação desse lentivírus é mediada principalmente por insetos hematófagos, cuja alta prevalência anual na região é sustentada por condições climáticas favoráveis. O abate sanitário de todos os positivos não é uma estratégia viável quando há alta prevalência doença ou para raças altamente especializadas ou raras, em que a manutenção do patrimônio genético deve ser uma prioridade. Ambas as situações exprimem a realidade do cavalo Marajoara, cuja preservação é dificultada por altas taxas de soropositividade, que aumentam o potencial para transmissão vertical ou transmissão mediada por inseto para os potros. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar as taxas de transmissão vertical e horizontal do EIAV para potros nascidos de éguas semisselvagens soropositivas até o desmame natural. Durante dois anos, o status sorológico de 28 potros nascidos de éguas ferais infectadas pelo EIAV foi monitorado, por meio do ELISAppg45 seguido do IDGA para confirmação dos resultados positivos. Dependendo da data de nascimento, alguns deles foram amostrados até seis vezes. Todos os potros permaneceram com suas respectivas éguas até o desmame completo, aproximadamente aos 10 meses de idade, e apenas 7,14% (2/28) dos potros tornaram-se positivos para o EIAV. Este resultado mostrou que na maioria dos casos é possível obter potros negativos para o EIAV quando nascidos e criados por éguas positivas em condições naturais de desmame, mesmo em regiões com clima equatorial, onde chuvas substanciais e altas temperaturas favorecem a proliferação de insetos vetores.

Palavras-chave: EIAV, transmissão para potros, equídeos ferais, Marajoara, Amazônia

4.1. Introdução

A Ilha de Marajó (Pará), na foz do rio Amazonas, abriga aproximadamente 30.000 equínos, incluindo os cavalos Marajoara, introduzidos na região pelos colonizadores

portugueses no início do século XVIII (IBGE, 2019; Marques *et al.*, 2016). Após o transporte das pastagens temperadas da Europa para a região Amazônica, esses animais foram confrontados com um clima de floresta tropical, diferentes fontes de vegetação, nutrientes e condições severas de calor (27°C) e umidade ($\geq 80\%$) durante todo o ano. Além disso, a região tem altos índices pluviométricos (2.800 - 3.400 mm/ano), com chuvas mais intensas concentradas entre janeiro e junho, período em que a Ilha de Marajó é inundada em mais de dois terços do seu território (Lima *et al.*, 2005; Schaan, 2010). Uma das principais características da raça Marajoara é a adaptação às condições locais adversas e embora muitos equídeos da Ilha vivam em condições selvagens/semiselvagens, muitos são utilizados principalmente para o transporte e manejo extensivo de rebanhos bovinos e bubalinos, uma das atividades econômicas mais importantes da região (Brasil, 2015; Marques *et al.*, 2016).

Embora originalmente isolados geograficamente, essa raça distinta começou a sofrer cruzamentos com outras raças de cavalos recentemente introduzidas e infelizmente, essa prática se tornou uma ameaça à integridade genética do cavalo Marajoara. Outra raça altamente especializada encontrada na Ilha de Marajó é o cavalo Puruca, resultante de cruzamentos entre o Marajoara com pôneis Shetland, sendo selecionados indivíduos com altura padrão máxima de 1,18 metros. Eles sofrem uma ameaça ainda maior, pois constituem uma população muito pequena e os cruzamentos desordenados têm resultado na substituição progressiva por um animal de maior porte, descaracterizando o padrão principal da raça (Ianella *et al.*, 2017; Reis *et al.*, 2008; Marques *et al.*, 2016).

Além da diluição das características genéticas pelo cruzamento com outras raças, outra grande ameaça aos equídeos que habitam a Ilha do Marajó é o *Equine Infectious Anemia Virus* (EIAV), que causa a anemia infecciosa equina (AIE). Em uma pesquisa realizada com apenas 294 equídeos, 46,26% foram soropositivos (Freitas *et al.*, 2015), sugerindo que este vírus é endêmico na região. A AIE se apresenta classicamente em três fases clínicas distintas: aguda, crônica e assintomática, sendo que aproximadamente 90% dos equídeos encontram-se no estágio de portador assintomático, em que, embora as cargas virais associadas ao sangue sejam geralmente baixas, eles permanecem como uma potencial fonte de transmissão viral (Craig and Montelaro, 2013; Leroux *et al.*, 2005).

O EIAV é transmitido através do sangue contaminado principalmente por via iatrogênica, pela reutilização de equipamentos e materiais cirúrgicos. Embora a transmissão vertical tenha sido relatada, na ausência de intervenção humana a forma mais importante de transmissão ocorre através da picada de insetos hematófagos, incluindo moscas de cavalo (família Tabanidae, gênero *Tabanus* ou *Hybomitra*), moscas do cervo (família Tabanidae,

Gênero *Chrysops*) e com menor frequência, moscas do estábulo (família Muscidae, gênero *Stomoxys*) (Issel and Foil, 2015). O risco de transmissão vetorial está diretamente relacionado ao número de animais infectados, proximidade entre os equídeos e densidade de vetores, sendo esta última determinada por fatores ambientais, incluindo altas temperaturas e umidade (Baldacchino *et al.*, 2014; Cook *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2001). Essas condições climáticas caracterizam a região Amazônica e, portanto, as populações de equídeos locais estão sujeitas a grandes populações de insetos vetores, incluindo diferentes espécies de tabanídeos (Baldacchino *et al.*, 2014; Coscarón and Papavero, 2009).

Na ausência de vacinas ou tratamentos eficazes, o controle do EIAV depende da identificação e remoção de indivíduos infectados da população, o qual é realizado por quarentena vitalícia ou, mais frequentemente, por eutanásia. Embora eficazes na redução da incidência geral de EIAV, tais métodos, especialmente quando envolvem a eutanásia, não são compatíveis com a preservação de raças raras, em que a manutenção da diversidade genética é uma prioridade. Um estudo indica que potros nascidos de éguas soropositivas para EIAV podem permanecer negativos (McConnico *et al.*, 2000), o que sugere a possibilidade de que éguas infectadas podem ser incorporadas com sucesso em programas de reprodução, resultando em implicações significativas na preservação de equídeos raros ou de alto valor zootécnico em áreas onde a AIE tem alta prevalência. Todavia, o estudo de McConnico *et al.* (2000) foi conduzido nos EUA, que tem clima predominantemente temperado e subtropical, onde grandes populações de vetores de insetos não estão continuamente presentes. Portanto, foi conduzido um estudo longitudinal para determinar as taxas de transmissão viral em potros nascidos de éguas ferais soropositivas para o EIAV, sob condições de desmame natural, que habitam a Ilha de Marajó, uma região com clima equatorial, grandes populações de insetos vetores durante todo o ano e uma composição entomológica diferente da encontrada na América do Norte.

4.2. Material e métodos

4.2.1. Área do estudo

Todas as amostras foram coletadas em uma propriedade rural composta por um habitat predominantemente nativo, com cerca de 5.000 hectares, no município de Soure, situado na costa leste da Ilha de Marajó. Com aproximadamente 49.606 km², o Marajó está localizado no extremo Norte do Pará, na foz do Rio Amazonas. Nas porções oeste e noroeste, a Ilha é limitada

pelas águas do rio Amazonas, ao norte pelo Oceano Atlântico, ao leste pela Baía do Marajó e ao sul pelo rio Pará (ver Figura 1 - Capítulo 2).

4.2.2. Coleta das amostras

O estudo foi conduzido entre janeiro de 2018 a janeiro de 2020 e envolveu 28 potros, 26 machos da espécie equina e dois muares fêmeas, todos nascidos de éguas que eram ou se tornaram soropositivas para AIE, conforme mostrado na Tabela 1. Embora a maioria dos potros equinos fossem mestiços, oito animais eram da raça Marajoara. Durante o curso deste estudo, dependendo da data de nascimento, os potros foram amostrados até seis vezes para investigar seu *status* sorológico. A maioria dos equídeos na propriedade (66,75% - 259/388) eram semisselvagens (incluindo os equídeos analisados neste estudo), enquanto uma menor parcela (19,32% - 75/388) era utilizada na lida com o gado, mas nenhum dos dois grupos eram submetidos a qualquer forma de procedimentos convencionais de criação, como vacinação e suplementação alimentar. O parto ocorreu em condições naturais e os potros permaneceram com suas mães até o desmame natural, por volta dos 10 meses de idade. O sangue foi coletado por punção venosa da jugular em tubos sem anticoagulante e posteriormente o soro foi transferido para microtubos de 1,5 mL. O material foi armazenado sob refrigeração e enviado ao Laboratório de Retrovírus, da Escola de Veterinária da UFMG, para realização dos testes. Todos os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG, sob o protocolo número 171/2018 (Anexo 1).

4.2.3. Ensaios sorológicos

Anticorpos contra glicoproteína do envelope gp45 do EIAV foram detectados por ELISA indireto (ELISAp45), conforme descrito por Naves *et al.*, (2019) (ver detalhes no tópico 3.2.5.1. – Capítulo 2).

Todas as amostras positivas para ELISAp45 foram subsequentemente analisadas para a presença de anticorpos contra a proteína p26 do EIAV, através do teste comercial de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) (Bruch Laboratories, Brasil), seguindo as instruções do fabricante. Conforme recomendação das autoridades regulatórias (Brasil, 2018), apenas as amostras que reagiram em ambos os testes foram classificadas como positivas.

4.3. Resultados

Durante o curso deste estudo, análises sorológicas foram realizadas para 26 potros equinos e dois potros muares, no entanto, os animais eram de diferentes idades, em que aproximadamente metade do grupo nasceu somente após a data da primeira coleta (janeiro/2018). Dessa forma, os potros foram divididos em três grupos: o Grupo A, que consistia de 14 potros nascidos antes de janeiro/2018; o Grupo B, composto por oito potros nascidos entre janeiro e julho/2018; e o Grupo C, constituído por seis potros nascidos após julho/2018 (Tabela 1). No momento da data da primeira coleta de amostra, os potros do Grupo A variavam em idade de um a 11 meses e, portanto, os três mais velhos (Potros 28, 46 e 165) estavam quase totalmente desmamados e eram negativos para EIAV. Todas as éguas deste grupo, exceto uma (mãe do Potro 24), foram soropositivas para EIAV quando testadas em janeiro/2018 (Tabela 1). Três potros neste grupo produziram reações positivas nos testes ELISAppg45 e IDGA. O potro 230 possuía anticorpos contra o EIAV na amostra coletada em janeiro/2018, mas tornou-se soronegativo no teste realizado em julho/2018 e assim permaneceu nos testes subsequentes até a conclusão do estudo. Considerando o fato de que este potro foi estimado em apenas um mês de idade em janeiro/2018, as reações positivas do teste produzidas apenas pela amostra inicial são quase certamente resultado da transferência anticorpos maternos. Entretanto, os potros 45 e 158, que tinham idades estimadas de sete meses em janeiro/2018, não tinham anticorpos detectáveis para EIAV neste primeiro ponto de coleta, mas ambos foram soropositivos em julho/2018. Em vista das idades desses potros, a presença de anticorpo específico para EIAV em julho/2018, aos 13 meses de idade, sugere fortemente a exposição ao vírus em algum momento depois de janeiro/2018. O potro 24 permaneceu com sua mãe por mais alguns meses e não se infectou até o final do experimento, mesmo após a égua ter testado positivo em julho/2018.

Dois potros do Grupo B (398 e 422) produziram resultados positivos em março/2018 e julho/2018, respectivamente (Tabela 1). Todavia, estima-se que ambos tinham aproximadamente um mês de idade no momento da coleta e, como eram soronegativos em todas as datas de amostragem subsequentes, é mais provável que as reações positivas iniciais no ELISAppg45 e no IDGA fossem o resultado da transferência de anticorpos maternos. Um caso semelhante de transferência de anticorpos colostrais também foi observado para o potro mular 454, do Grupo C, em que embora tenha testado positivo aos dois meses de idade (novembro/2018), apresentou resultados negativos em julho/2019 e novamente em

janeiro/2020 (Tabela 1). Coletivamente, esses resultados demonstram que dos 28 potros estudados, apenas dois (7,14%) foram verdadeiramente infectados pelo EIAV.

Tabela 1. Idade, raça, data das coletas e resultados dos potros avaliados para AIE

Potro	Raça/Espécie	Idade (meses) na época da 1ª coleta	Data do teste positivo da mãe	Datas das coletas dos potros					
				Jan/18	Mar/18	Jul/18	Nov/18	Jul/19	Jan/20
24	Mestiço	1	Jul/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
28	Mestiço	10	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
45	Mestiço	7	Jan/18	Neg	Neg	Pos	NC	NC	NC
46	Mestiço	11	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	NC	NC
78	Marajoara	7	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
89	Mestiço	6	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
137	Mestiço	7	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
154	Marajoara	8	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
155	Mestiço	7	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
158 ¹	Marajoara	7	Jan/18	Neg	NC	Pos	NC	NC	NC
165	Mestiço	10	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
196	Mestiço	6	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
200	Mestiço	6	Jan/18	Neg	NC	Neg	Neg	Neg	ND
230	Mestiço	1	Jan/18	Pos	NC	Neg	Neg	Neg	Neg
398	Marajoara	1	Jan/18	–	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg
404	Marajoara	1	Jan/18	–	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
420	Mestiço	4	Jan/18	–	–	Neg	Neg	NC	NC
421	Mestiço	4	Jul/18	–	–	Neg	Neg	Neg	Neg
422	Mestiço	1	Jan/18	–	–	Pos	Neg	Neg	Neg
424	Mestiço	3	Nov/18	–	–	Neg	Neg	Neg	Neg
436	Mestiço	3	Jul/18	–	–	Neg	Neg	NC	NC
439	Mestiço	2	Nov/18	–	–	Neg	Neg	Neg	Neg
454	Muar	2	Jul/18	–	–	–	Pos	Neg	Neg
455	Marajoara	5	Jan/18	–	–	–	Neg	Neg	Neg
516	Marajoara	7	Jul/18	–	–	–	–	Neg	Neg
517	Marajoara	4	Jul/18	–	–	–	–	Neg	Neg
518	Mestiço	3	Nov/18	–	–	–	–	Neg	Neg
519	Muar	4	Nov/18	–	–	–	–	Neg	Neg

Legenda:

¹ Potro 158 apresentou resultado positivo no ELISApp45 e negativo no IDGA em jan/2018 e no teste seguinte tornou-se positivo também no IDGA

NC: Não coletado

–: Potro não nascido na data da coleta

4.4. Discussão

Os cavalos Marajoara e Puruca se adaptaram ao longo dos anos para sobreviver nas condições adversas de calor e umidade da Ilha de Marajó, mas mesmo geograficamente isolados por seu ambiente insular, eles foram submetidos a cruzamentos com outras raças introduzidas na região, o que resultou em uma redução no número de indivíduos com características genéticas e fenotípicas associadas a essas raças, colocando-as em risco de extinção (Costa *et al.*, 2005; Marques *et al.*, 2016). Os esforços para preservar tais raças são dificultados ainda pela ocorrência de doenças infecciosas, como a AIE, que parece ser endêmica na Ilha de Marajó. Os métodos convencionais de controle do EIAV envolvendo eutanásia de indivíduos infectados não são viáveis, especialmente quando a prevalência na população de equídeos da região parece ultrapassar 40% (Freitas *et al.*, 2015).

Para a preservação de qualquer espécie ou raça ameaçada, é importante manter a maior diversidade genética possível da população original, a fim de evitar efeito fundador, ou seja, quando uma nova população é estabelecida, baseada em poucos indivíduos fundadores, aumentando assim a possibilidade de manifestação de características genotípicas ou fenotípicas indesejáveis. Conseqüentemente, para garantir a sobrevivência dos cavalos Marajoara e Puruca, pode ser desejável ou mesmo necessário inserir éguas soropositivas para EIAV em um programa de reprodução. Isso não seria possível se houvesse alto risco de transmissão vertical da égua para o potro, seja *in utero*, durante o parto ou pela ingestão de colostro e/ou leite materno. Em populações humanas infectadas com o lentivírus relacionado *Human immunodeficiency virus* (HIV), por exemplo, foi demonstrado que o risco de transmissão vertical, na ausência de terapia antirretroviral, variou de 15% a 35% (Newell, 2000). Além do HIV, foi demonstrado que outros lentivírus, incluindo os *Small ruminant lentiviruses* (SRLV) e o *Feline immunodeficiency virus* (FIV), assim como outros retrovírus, *Mouse mammary tumor virus* (MMTV), *Bovine leukemia virus* (BLV) e *Human T-cell leukemia virus type-1* (HTLV-1) podem ser transmitidos através do leite materno (Blacklaws *et al.*, 2004; Burkhard and Dean, 2003; Dudley *et al.*, 2016; Romero *et al.*, 1983; Carneiro-Proietti *et al.*, 2014).

Apesar da escassez de informações sobre a transmissão vertical do EIAV, um estudo relatou que o EIAV pode ser transmitido *in utero* com uma incidência de 100% (7/7) se as éguas apresentarem episódios clínicos durante a gestação, mas a taxa de transmissão vertical diminuiu para menos de 11% (5/45) em caso de éguas assintomáticas. Os cinco potros desse estudo desenvolveram sinais clínicos aos quatro meses de idade, mas foram mantidos no mesmo ambiente de outro potro infectado, portanto a transmissão pode não ter sido vertical, mas sim

por via horizontal através da picada de insetos (Kemen Jr and Coggins, 1972 citado por Gregg and Polejaeva, 2009). Isso sugere que as altas cargas virais associadas ao sangue presentes durante os episódios febris aumentam significativamente a probabilidade de que o EIAV atravesse a placenta, entretanto, se a égua infectada permanecer assintomática, o risco de transmissão para o feto no útero ou durante o parto diminui em pelo menos 90%. Adicionalmente, embora o leite de éguas positivas contenha partícula viral infecciosa, capaz de infectar cavalos quando inoculado intradermicamente, o EIAV parece não ser transmitido aos potros durante a amamentação (Board, 1914; Stein and Mott, 1947; Stein and Mott, 1946; citado por Gregg and Polejaeva, 2009), ao contrário do que é observado para outros lentivírus, como HIV, FIV e SRLV (Blacklaws *et al.*, 2004; Burkhard and Dean, 2003; Newell, 2000). Isso é apoiado pelos resultados obtidos neste estudo e por trabalhos anteriores envolvendo potros nascidos de éguas positivas (Issel *et al.*, 1985; McConnico *et al.*, 2000; Nogueira *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2001). De fato, dois potros (45 e 158) se tornaram soropositivos durante o curso deste estudo, contudo isso ocorreu quando eles tinham entre sete e 13 meses de idade, e, portanto, é improvável que a transmissão tenha sido vertical.

Embora a transmissão vertical de EIAV para potros pareça ser um evento raro, eles ainda podem ser expostos ao vírus através da picada de insetos hematófagos, visto que geralmente permanecem próximos às mães até o desmame completo. Para reduzir o risco de transmissão mediada por insetos Silva *et al.* (2001) desmamaram potros nascidos de éguas soropositivas aos seis meses de idade e os segregaram do restante do rebanho em pelo menos 200 metros. Embora essas medidas evitem a exposição ao EIAV, o desmame precoce resulta em estresse tanto para as éguas, quanto para seus potros, além disso, as medidas de isolamento exigem muito recurso e manejo. Um experimento conduzido nos EUA, envolvendo 12 potros selvagens, separados de suas mães antes dos três/quatro meses de idade, demonstrou que eles permaneceram negativos, embora tenham sido criados nos primeiros meses de vida por suas respectivas mães, portadoras inaparentes do EIAV, mesmo com altas populações de insetos vetores durante os meses de verão em que o projeto foi realizado (McConnico *et al.*, 2000). Nossos resultados demonstraram que 92,86% (26/28) dos potros nascidos de éguas soropositivas permaneceram negativos para esse vírus durante todo o período do estudo, na região Amazônica. Ao contrário dos animais descritos por McConnico *et al.* (2000), os equídeos aqui avaliados foram mantidos com suas respectivas mães soropositivas por longos períodos em condições semisselvagens, em um ambiente onde o EIAV é endêmico e o clima de floresta tropical quente e úmido favorece altas populações de insetos vetores durante todo o ano (Baldacchino *et al.*, 2014; Guimarães and Aguiar, 2019).

Os resultados aqui relatados estão de acordo com uma pesquisa realizada na região do Pantanal sul-mato-grossense, onde as taxas de soropositividade em potros com aproximadamente um ano de idade foram encontradas em apenas 3,3%, apesar de 65,93% da população de equídeos em geral apresentar sorologia positiva (Nogueira *et al.*, 2011). Embora nesta pesquisa a falta de registro dos nascimentos tenha resultado no desconhecimento do *status* sorológico das respectivas mães de cada potro, os achados de Nogueira *et al.* (2011) juntamente com os resultados aqui obtidos, indicam que os potros têm um risco relativamente baixo de infecção pelo EIAV, mesmo em um ambiente altamente favorável à transmissão mediada por insetos hematófagos. Uma possível explicação para isso inclui os efeitos protetores da transferência de anticorpos específicos para EIAV no colostro. Inicialmente, estes podem estar presentes em concentrações relativamente altas no soro de potros, mas diminuem com o tempo, tornando-se indetectáveis por IDGA em uma idade média de 183 dias (McConnico *et al.*, 2000). Outro fator de proteção pode ser o fato de os potros jovens terem uma resposta defensiva mais vigorosa à presença de insetos hematófagos do que os equídeos adultos, e os movimentos defensivos costumam fazer com que o inseto se mude para um hospedeiro mais passivo. Foi observado em cavalos em pastagem livre, que os potros têm apenas 2,43% da carga de tabanídeos encontrada em animais mais velhos (Foil *et al.*, 1985). Além disso, animais de maior porte podem ser mais atraentes visual e olfativamente aos insetos hematófagos, pois produzem maiores concentrações de substâncias quimiotáticas, como o dióxido de carbono (Baldacchino *et al.*, 2014).

As cargas virais associadas ao sangue em portadores inaparentes também podem ser extremamente importantes, mas infelizmente, isso não foi estudado extensivamente, especialmente em populações de equídeos selvagens. Em situações experimentais, os episódios clínicos de AIE estão associados a cargas virais que podem ultrapassar 10^6 doses infecciosas em cavalos por mL de sangue periférico. Um inseto hematófago de tamanho médio, como *Tabanus fuscicostatus*, retém 10 ± 5 nL de sangue no aparelho bucal após interrupção do repasto sanguíneo, e no caso de alimentação em equídeos febris, esse volume equivale a cinco a 15 partículas infecciosas de EIAV. Isso sugere que, em teoria, a disseminação de EIAV pode ocorrer após uma única picada de mosca em um equídeo com sinais clínicos de AIE, embora experimentalmente tenha sido demonstrado que a transmissão por *T. fuscicostatus* nessas circunstâncias ocorreu em uma a cada sete tentativas. Em contraste, os portadores inaparentes têm títulos de viremia de uma dose infecciosa em cavalo por mL de sangue periférico. Nessas circunstâncias, a probabilidade numérica da transmissão por *T. Fuscicostatus* é de aproximadamente uma em 67.000-200.000 (Foil *et al.*, 1987; Hawkins *et al.*, 1976; Issel *et al.*,

1982). Se esses números se aplicarem à realidade do campo, o risco de transmissão mediada por insetos pode ser considerado baixo, mesmo em situações com elevada densidade de insetos vetores, a não ser que a alimentação ocorra em um equídeo com sinais clínicos de AIE. Embora mais estudos sejam necessários, os resultados detalhados aqui sugerem fortemente que éguas positivas e inaparentes representam um risco muito baixo de transmissão do EIAV para seus potros em todos os estágios da vida, desde o desenvolvimento no útero até o desmame completo.

4.5. Conclusão

Este trabalho apresenta evidências que apoiam o argumento de que a transmissão vertical é um evento raro em potros nascidos de éguas soropositivas assintomáticas. Além disso, as taxas de transmissão mediada por insetos hematófagos para potros são baixas, permitindo que um potro permaneça com sua mãe soropositiva até o desmame completo, mesmo em condições que são altamente favoráveis para a manutenção de alta densidade de vetores durante todo o ano. Esses achados demonstram que é possível obter potros livres de EIAV mesmo quando nascidos de mães soropositivas, desde que as éguas não apresentem sinais clínicos de AIE.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A anemia infecciosa equina é uma doença amplamente distribuída e de grande importância socioeconômica, sobretudo em regiões com alta prevalência e que dependem da equideocultura para o desenvolvimento de determinadas atividades, como a pecuária extensiva. Um exemplo clássico é o Pantanal, mas outra região que compartilha algumas características, como alta prevalência da AIE, alta densidade de insetos hematófagos e dependência dos equídeos para o manejo do gado e até mesmo para o transporte, é a Ilha de Marajó, na Amazônia brasileira. Além da importância econômica dos cavalos na região, há ainda o agravante das raças Marajoara e Puruca, geneticamente distintas e adaptadas às adversidades climáticas locais, estarem em risco de extinção. Apesar disso, poucos são os esforços para melhorar os aspectos sanitários da população de equídeos da Ilha.

Em vista da alta prevalência da AIE, o abate sanitário é uma medida inviável, que colocaria em risco não apenas a sobrevivência dessas raças raras, mas também a subsistência de muitos cidadãos marajoaras. Diante disso, o trabalho piloto aqui desenvolvido demonstrou que é possível controlar a AIE, tanto em equídeos que vivem em condições semisselvagens, quanto daqueles que são utilizados para o trabalho de campo, preconizando a segregação dos soropositivos em vez da eutanásia e implementando medidas básicas de manejo sanitário, como uso individual de agulhas. Adicionalmente, os potros podem permanecer com suas mães positivas até o desmame natural, com baixo risco de se infectarem, isso aumenta a sobrevivência do potro e facilita o manejo, não havendo necessidade de criar um terceiro grupo de animais.

A abordagem proposta permite que os cavalos continuem sendo utilizados e, desde que os proprietários/funcionários se comprometam com os cuidados necessários, leve a uma redução gradativa da prevalência da AIE, agregando valor ao rebanho.

Alguns entraves impediram que o trabalho fosse conduzido de forma “ideal”. A dificuldade de acesso à Ilha e à propriedade durante a época de cheia, bem como o manejo dos animais para a realização das coletas neste período é uma limitação difícil de ser contornada e representa a realidade de boa parte das fazendas da Ilha de Marajó. Além disso, havia toda uma questão de logística e recursos humanos para que as amostras fossem coletadas e posteriormente fossem transportadas para Belo Horizonte, nas devidas condições de acondicionamento e biossegurança, sem que houvesse perda da qualidade do material. O custo dessa empreitada, adicionalmente ao custo dos testes de diagnóstico, foi muito elevado e infelizmente não houve financiamento específico para esta proposta. A parceria com os colaboradores da UFPA e a captação de recursos por fontes alternativas foram fundamentais

para a realização deste projeto. Por fim, mesmo com todos os empecilhos, o trabalho desenvolvido foi bem-sucedido e os resultados alcançados foram extremamente satisfatórios.

As informações adquiridas também são importantes para programas de preservação dos cavalos Marajoara e Puruca, pois além de não ser necessário abater os positivos, ainda podem utilizar éguas soropositivas para a reprodução, garantindo potros livres de infecção na grande maioria dos casos. Além destas raças autóctones, o modelo proposto poderia servir como base para a preservação de outras raças que habitam a Amazônia, como os cavalos Lavradeiro, dos campos de Roraima, e o Baixadeiro, da Baixada Maranhense.

6. PERSPECTIVAS

Apesar dos indicativos de que a AIE seja endêmica, é necessária a realização de um amplo estudo de prevalência na Ilha de Marajó, para determinar o perfil epidemiológico da AIE na região e ajudar a direcionar os esforços para o controle da doença.

O modelo de controle proposto neste trabalho foi implementado em uma propriedade representativa da Ilha e mostrou-se eficaz, assim, estudos mais abrangentes, envolvendo outras propriedades em outros municípios devem ser conduzidos. É importante que haja interesse e participação do poder público, que deve estimular a população para que haja adesão à proposta.

Por último, e não menos importante, a preservação das raças Marajoara e Puruca é um dos pontos que merece destaque e que precisa ser considerado como uma prioridade pelas autoridades locais, que devem realizar um extenso trabalho de conscientização com os criadores, bem como devem promover outras ações viabilizem maior sobrevivência e aumento da população dos equinos da Amazônia.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, D.M., Cavalcante, G.T., Lara, M.D.C.C. de S.H., Villalobos, E.M.C., Cunha, E.M.S., Okuda, L.H., Stéfano, E. De, Nassar, A.F. de C., Souza, G.O., Vasconcellos, S.A., Labruna, M.B., Camargo, L.M.A., Gennari, S.M. (2008) Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. **45**(4), 269.
- Almeida, V.M. de A., De Oliveira, C.H.S., Fiorillo, K.S., Martins, M.F., Leite, R.C., Reis, J.K.P., Gonçalves, V.S.P. (2017) Prevalence of equine infectious anemia in stud farms in Minas Gerais, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. **38**(3), 1335–1346.
- Almeida, V.M.A., Gonçalves, V.S.P., Martins, M.F., Haddad, J.P.A., Dias, R.A., Leite, R.C., Reis, J.K.P. (2006) Anemia infecciosa equina: prevalência em equídeos de serviço em Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. **58**(2), 141–148.
- Anand, K., Schulte, A., Vogel-bachmayr, K., Scheffzek, K., Geyer, M. (2008) Structural insights into the Cyclin T1 – Tat – TAR RNA transcription activation complex from EIAV. *Nature Structural & Molecular Biology*. **15**(12), 1287–1292.
- Autorino, G.L., Eleni, C., Manna, G., Frontoso, R., Nardini, R., Cocumelli, C., Rosone, F., Caprioli, A., Al, L., Scicluna, M.T. (2016) Evolution of equine infectious anaemia in naturally infected mules with different serological reactivity patterns prior and after immune suppression. *Veterinary Microbiology*. **189**, 15–23.
- Azevedo, G.P.C. de, Camarão, A.P., Mesquita, T. da C. (2000) Características dos sistemas de produção pecuários dos municípios de Soure, Salvaterra e Cachoeira do Arari, Ilha de Marajó - Pará. *Embrapa Amazônia Oriental. Documentos*, 53, 38.
- Baldacchino, F., Desquesnes, M., Mihok, S., Foil, L.D., Duvallet, G., Jittapalapong, S. (2014) Tabanids: neglected subjects of research, but important vectors of disease agents! *Infection, Genetics and Evolution*. **28**, 596–615.
- Ball, J.M., Rushlow, K.E., Issel, C.J., Montelaro, R.C. (1992) Detailed mapping of the antigenicity of the surface unit glycoprotein of Equine infectious anemia virus by using synthetic peptide strategies. *Journal of Virology*. **66**(2), 732–742.
- Barros, A.T.M., Foil, L.D. (2007) The influence of distance on movement of tabanids (Diptera: Tabanidae) between horses. *Veterinary Parasitology*. **144**(3–4), 380–384.
- Barros, M.L., Borges, A.M.C., Oliveira De, A.C.S., Lacerda, W., O Souza De, A., Aguiar, D.M. (2018) Spatial distribution and risk factors for equine infectious anaemia in the state of Mato Grosso, Brazil. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*. **37**(3), 971–983.
- Benchimol, J.L., Sá, M.R. (2005) *Adolpho Lutz: Entomologia - tabanídeos*. FIOCRUZ, ed. Rio de Janeiro.
- Blacklaws, B.A., Berriatua, E., Torsteinsdottir, S., Watt, N.J., De Andres, D., Klein, D., Harkiss, G.D. (2004) Transmission of small ruminant lentiviruses. *Veterinary Microbiology*. **101**(3), 199–208.
- Board, H.A. (1914) Report on the results obtained by the special committee for investigation of infectious anemia of horse. *Vet J*. **70**.
- Bolfa, P., Nolf, M., Cadoré, J.-L., Catoi, C., Archer, F., Dolmazon, C., Mornex, J.-F., Leroux, C. (2013) Interstitial lung disease associated with Equine infectious anemia virus infection in horses. *Veterinary Research*. **44**(113).

Borges, A.M.C.M., Silva, L.G., Nogueira, M.F., Oliveira, A.C.S., Segri, N.J., Ferreira, F., Witter, R., Aguiar, D.M. (2013) Prevalence and risk factors for Equine infectious anemia in Poconé municipality, northern Brazilian Pantanal. *Research in Veterinary Science*. **95**(1), 76–81.

Brasil (2017) 2º Festival do Cavalo Marajoara traz novos desafios para competidores. [online]. Disponível em: <<http://www.seel.pa.gov.br/noticia/2º-festival-do-cavalo-marajoara-traz-novos-desafios-para-competidores>>. Acesso em: 04 de abril de 2021.

Brasil (2019a) 3º Festival do Cavalo Marajoara abre com prova de resistência. [online]. Disponível em: <<https://agenciapara.com.br/noticia/15983/>>. Acesso em: 04 de abril de 2021.

Brasil (2019b) Coordenação de Informação e Epidemiologia – Saúde Animal. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. [online]. Disponível em: <<http://indicadores.agricultura.gov.br/saudeanimal/index.htm>>. Acesso em: 22 de abril de 2021.

Brasil (2004) Instrução Normativa nº 45, de 15 de junho de 2004. Diário Oficial da União.

Brasil (2018) Instrução Normativa nº 52, de 26 de novembro de 2018. Diário Oficial da União.

Brasil (2007) Plano de desenvolvimento territorial sustentável para o arquipélago do Marajó. pp. 1-26.

Brasil (2014) Portaria nº 378, de 17 de dezembro de 2014. Diário Oficial da União.

Brasil (2015) Região de Integração Marajó. In *Plano plurianual 2016-2019*. pp. 14–79.

Brasil (2012) Relatório analítico do território do Marajó. pp. 1-79.

Bueno, B.L., Câmara, R.J.F., Moreira, M.V.L., Galinari, G.C.F., Souto, F.M., Victor, R.M., Bicalho, J.M., Ecco, R., Reis, J.K.P. (2020) Molecular detection, histopathological analysis, and immunohistochemical characterization of equine infectious anemia virus in naturally infected equids. *Archives of Virology*. **165**(6), 1333–1342.

Burkhard, M.J., Dean, G.A. (2003) Transmission and Immunopathogenesis of FIV in Cats as a Model for HIV. *Current HIV Research*. **1**(1), 15–29.

Cappelli, K., Cook, R.F., Stefanetti, V., Passamonti, F., Autorino, G.L., Scicluna, M.T., Coletti, M., Verini Supplizi, A., Capomaccio, S. (2017) Deep sequencing and variant analysis of an Italian pathogenic field strain of Equine infectious anaemia virus. *Transboundary and Emerging Diseases*. **64**(6), 2104–2112.

Carneiro-Proietti, A.B.F., Amaranto-Damasio, M.S., Leal-Horiguchi, C.F., Bastos, R.H.C., Seabra-Freitas, G., Borowiak, D.R., Ribeiro, M.A., Proietti, F.A., Ferreira, A.S.D., Martins, M.L. (2014) Mother-to-child transmission of Human T-cell lymphotropic viruses-1/2: what we know, and what are the gaps in understanding and preventing this route of infection. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. **3**, 24–29.

Carpenter, S., Dobbs, D. (2010) Molecular and biological characterization of Equine infectious anemia virus rev. *Current HIV Research*. **8**, 87–93.

Coggins, L., Norcross, N.L., Nusbaum, S.R. (1972) Diagnosis of equine infectious anemia by immunodiffusion test. *American Journal of Veterinary Research*. **33**(1), 11–8.

Cook, R.F., Leroux, C., Issel, C.J. (2013) Equine infectious anemia and equine infectious anemia virus in 2013: A review. *Veterinary Microbiology*. **167**(1–2), 181–204.

Cook, R.F., Barrandeguy, M., Lee, P.Y.A., Tsai, C.F., Shen, Y.H., Tsai, Y.L., Chang, H.F.G., Wang, H.T.T., Balasuriya, U.D.R. (2018) Rapid detection of Equine infectious anaemia virus

- nucleic acid by insulated isothermal RT-PCR assay to aid diagnosis under field conditions. *Equine Veterinary Journal*, 1–6.
- Cook, S.J., Cook, R.F., Montelaro, R.C., Issel, C.J. (2001) Differential responses of *Equus caballus* and *Equus asinus* to infection with two pathogenic strains of equine infectious anemia virus. *Veterinary Clinics of NA: Equine Practice*. **79**, 93–109.
- Coscarón, S., Papavero, N. (2009) Catalogue Of Neotropical Diptera. Tabanidae. *Neotropical Diptera*. **16**, 1–199.
- Costa, M.R., Marques, J.R.F., Vega-Pla, J.L., Bermejo, J.V.D., Sampaio, M.I. da C., Gallardo, P.P.R. (2005) Variabilidade genética de equinos da Amazonia Brasileira. *Biociência & Desenvolvimento*. **35**, 52–55.
- Costa, M.R.T. (2008) A história dos equinos na Amazônia: ênfase ao cavalo marajoara. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Embrapa Amazônia Oriental.
- Covaleda, L., Fuller, F.J., Payne, S.L. (2010) EIAV S2 enhances pro-inflammatory cytokine and chemokine response in infected macrophages. *Virology*. **397**(1), 217–223.
- Craig, J.K., Leroux, C., Howe, L., Steckbeck, J.D., Cook, S.J., Issel, C.J., Montelaro, R.C. (2002) Transient immune suppression of inapparent carriers infected with a principal neutralizing domain-deficient equine infectious anaemia virus induces neutralizing antibodies and lowers steady-state virus replication. *Journal of General Virology*. **83**, 1353–1359.
- Craig, J.K., Montelaro, R.C. (2013) Lessons in AIDS vaccine development learned from studies of equine infectious, anemia virus infection and immunity. *Viruses*. **5**, 2963–2976.
- Cullinane, A., Quinlivan, M., Nelly, M., Patterson, H., Kenna, R., Garvey, M., Gildea, S., Lyons, P., Flynn, M., Galvin, P., Neylon, M., Jankowska, K. (2007) Diagnosis of equine infectious anaemia during the 2006 outbreak in Ireland. *Veterinary Record*. **161**(19), 647–652.
- Deshiere, A., Berthet, N., Lecouturier, F., Gaudaire, D., Hans, A. (2019) Molecular characterization of Equine infectious anemia viruses using targeted sequence enrichment and next generation sequencing. *Virology*. **537**, 121–129.
- Dohoo, I.R., Martin, S.W., Stryhn, H. (2003) *Veterinary Epidemiologic Research*. Charlottetown, P.E.I.: University of Prince Edward Island.
- Dong, J.B., Zhu, W., Cook, F.R., Goto, Y., Horii, Y., Haga, T. (2013) Identification of a novel Equine infectious anemia virus field strain isolated from feral horses in southern Japan. *Journal of General Virology*. **94**(Pt2), 360–365.
- Dorey-Robinson, D.L.W., Locker, N., Steinbach, F., Choudhury, B. (2019) Molecular characterization of equine infectious anaemia virus strains detected in England in 2010 and 2012. *Transboundary and Emerging Diseases*. **66**(6), 2311–2317.
- Dudley, J.P., Golovkina, T. V., Ross, S.R. (2016) Lessons Learned from Mouse Mammary Tumor Virus in Animal Models. *ILAR Journal*. **57**(1), 12–23.
- EMBRAPA (2016) Inventário de recursos genéticos animais da Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). , 1–108.
- FAEPA (2015) Agronegócio do cavalo no estado do Pará. Federação da Agricultura e Pecuária do Pará.
- Fagerness, A.J., Flaherty, M.T., Perry, S.T., Jia, B., Payne, S.L., Fuller, F.J. (2006) The S2 accessory gene of equine infectious anemia virus is essential for expression of disease in ponies. *Virology*. **349**, 22–30.

FAO (2019) FAOSTAT – Live Animal. Food and Agriculture Organization of the United Nations. [online]. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>>. Acesso em: 03 de maio de 2021.

FFTC (2014) The National Medium and Long-Term Plan for disease Control (2012-2020). Food na Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region. [online]. Disponível em: <<https://ap.ffc.org.tw/article/742>>. Acesso em: 28 de abril de 2021.

Foil, L., Stage, D., Adams Jr, W. V., Issel, C.J. (1985) Observations of Tabanid Feeding on Mares and Foals. *American Journal of Veterinary Research*. **45**(5), 1111–3.

Foil, L.D., Adams, W. V., McManus, J.M., Issel, C.J. (1987) Blood meal residues on mouthparts of *Tabanus fuscicostatus* (Diptera: Tabanidae) and the potential for mechanical transmission of pathogens. *Journal of Medical Entomology*. **24**(6), 613–6.

Freitas, N.F.Q.R., Oliveira, C.M.C., Leite, R.C., Reis, J.K.P., Oliveira, F.G., Bomjardim, H. dos A., Salvarani, F.M., Barbosa, J.D. (2015) Equine infectious anemia on Marajo Island at the mouth of the Amazon river. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. **35**(12), 947–950.

FUNDAJ (2014) Ilha de Marajó. Fundação Joaquim Nabuco. [online]. Disponível em: <http://basilio.fundaj.gov.br/pesquisaescolar./index.php?option=com_content&view=article&id=1044%3Ailha-de-marajo&catid=44%3Aletra-i&Itemid=1>. Acesso em: 05 de abril de 2021.

Gregg, K., Polejaeva, I. (2009) Risk of equine infectious anemia virus disease transmission through in vitro embryo production using somatic cell nuclear transfer. *Theriogenology*. **72**(3), 289–299.

Guimarães, R.R., Aguiar, V.M. (2019) Specimens inventory of Tabanidae (Diptera) of entomological collection of National Museum of Natural History - Universidade Federal do Rio de Janeiro. *Biota Neotropica*. **19**(3), 21.

Hammond, S.A., Cook, S.J., Lichtenstein, D.L., Issel, C.J., Montelaro, R.C. (1997) Maturation of the cellular and humoral immune responses to persistent infection in horses by Equine infectious anemia virus is a complex and lengthy process. *Journal of Virology*. **71**(5), 3840–3852.

Harrold, S.M., Cook, S.J., Cook, R.F., Rushlow, K.E., Issel, C.J., Montelaro, R.C. (2000) Tissue sites of persistent infection and active replication of Equine infectious anemia virus during acute disease and asymptomatic infection in experimentally infected equids. *Journal of Virology*. **74**(7), 3112–3121.

Hawkins, J.A., Adams Jr, W. V., Wilson, B.H., Issel, C.J., Roth, E.E. (1976) Transmission of equine infectious anemia virus by *Tabanus fuscicostatus*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. **168**(1), 63–4.

Heinemann, M.B., Cortez, A., Souza, M. do C.C. de, Gotti, T., Ferreira, F., Homem, V.S.F., Ferreira Neto, J.S., Soares, R.M., Sakamoto, S.M., Cunha, E.M.S., Richtzenhain, L.J. (2002) Soroprevalência da anemia infecciosa equina, da arterite viral dos equinos e do aborto viral equino no município de Uruará, PA, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. **39**(1), 50–53.

Hizi, A., Herzig, E. (2015) dUTPase: the frequently overlooked enzyme encoded by many retroviruses. *Retrovirology*, 1–15.

HRVI (2015) Harbin Veterinary Research Institute - About us. [online]. Disponível em: <<http://www.hvri.ac.cn/en/aboutus/athvri/index.htm>>. Acesso em: 28 de abril de 2021.

- Ianella, P., Albuquerque, M. do S.M., Paiva, S.R., Egito, A.A., Almeida, L.D., Sereno, F.T.P.S., Carvalho, L.F.R., Mariante, A. da S., McManus, C.M. (2017) D-loop haplotype diversity in Brazilian horse breeds. *Genetics and Molecular Biology*. **40**(3), 604–609.
- IBGE (2019) Pesquisa da pecuária municipal. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [online]. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>>. Acesso em: 04 de abril de 2021.
- ICTV (2021) ICTV Taxonomy history: Equine infectious anemia virus. International Committee on Taxonomy of Viruses. [online]. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=19911439&src=NCBI&ictv_id=19911439>. Acesso em: 25 de abril de 2021.
- IPEA (2016) A função socioambiental do patrimônio da União na Amazônia. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada.
- Issel, C., McConnico, R. (2001) The risk of EIA in foals. *The Horse*. [online]. Disponível em: <<https://thehorse.com/15296/the-risk-of-eia-in-foals/>>. Acesso em: 29 de abril de 2021.
- Issel, C.J., Adams Jr, W. V., Foil, L.D. (1985) Prospective study of progeny of inapparent equine carriers of equine infectious anemia virus. *American Journal of Veterinary Research*. **46**(5), 1114–6.
- Issel, C.J., Adams Jr, W. V., Meek, L., Ochoa, R. (1982) Transmission of equine infectious anemia virus from horses without clinical signs of disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. **180**(3), 272–5.
- Issel, C.J., Cook, R.F., Mealey, R.H., Horohov, D.W. (2014) Equine Infectious Anemia in 2014: Live with It or Eradicate It? *Veterinary Clinics of NA: Equine Practice*. **30**(3), 561–577.
- Issel, C.J., Foil, L.D. (2015) Equine infectious anaemia and mechanical transmission: man and the wee beasties. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*. **34**(2), 513–523.
- Issel, C.J., Scicluna, M.T., Cook, S.J., Cook, R.F., Caprioli, A., Ricci, I., Rosone, F., Craigo, J.K., Montelaro, R.C., Autorino, G.L. (2012) Challenges and proposed solutions for more accurate serological diagnosis of equine infectious anaemia. *Veterinary Record*, 1–9.
- Itália (2016) Decreto 2 febbraio 2016. Piano nazionale per la sorveglianza ed il controllo dell'anemia infettiva degli equidi. Gazzetta Ufficiale.
- Itália (2006) Ordinanza Ministeriale 14 novembre 2006. Disposizioni urgenti in materia di sorveglianza dell'anemia infettiva degli equidi. Gazzetta Ufficiale.
- IZSLT (2011) Report delle attività analitiche svolte dagli Istituti Zooprofilattici Sperimentali in Italia nel periodo 2007-2011. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Lazio e Toscana.
- IZSTO (2021) Report dati sanitari - Sanità animale - Equini - Anemia Infettiva Equina. Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta. [online]. Disponível em: <<http://www.izsto.it/index.php/report-dati-sanitari/sanita-animale-19344/equini/anemia-infettiva-equina>>. Acesso em: 28 de abril de 2021.
- Kemen Jr, M.J., Coggins, L. (1972) Equine infectious anemia: transmission from infected mares to foals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. **161**(5), 496–9.
- Leroux, C., Cadoré, J., Montelaro, R.C. (2004) Equine infectious anemia virus (EIAV): what has HIV 's country cousin got to tell us ? *Veterinary Research*. **35**, 485–512.

- Leroux, C., Issel, C.J., Montelaro, R.C. (1997) Novel and dynamic evolution of equine infectious anemia virus genomic quasispecies associated with sequential disease cycles in an experimentally infected pony. *Journal of virology*. **71**(12), 9627–9639.
- Leroux, C., Montelaro, R.C., Sublimec, E., Cadoré, J.L. (2005) EIAV (equine infectious anemia virus): mieux comprendre la pathogenèse des infections lentivirales. *Virologie*. **9**(4), 289–300.
- Lima, A.M.M., Oliveira, L.L., Fontinhas, R.L., Limas, R.J.S. (2005) Ilha do Marajó: revisão histórica, hidroclimatologia, bacias hidrográficas e propostas de gestão. *HOLOS Environment*. **5**(1), 65–80.
- Van Maanen, C. (2013) Progressive control of equine infectious anaemia through more accurate diagnosis. *Veterinary Record*, 208–210.
- Malossi, C.D., Fioratti, E.G., Cardoso, J.F., Magro, A.J., Kroon, E.G., de Aguiar, D.M., Borges, A.M.C.M., Nogueira, M.F., Ullmann, L.S., Araujo Jr, J.P. (2020) High genomic variability in Equine infectious anemia virus obtained from naturally infected horses in Pantanal, Brazil: An endemic region case. *Viruses*. **12**(2), 1–15.
- MAPA (2016) Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.
- Maresca, C., Scoccia, E., Faccenda, L., Zema, J., Costarelli, S. (2012) Equine infectious anemia: active surveillance in central Italy 2007–2009. *Journal of Equine Veterinary Science*. **32**(9), 596–598.
- Marques, J.R.F., Costa, M.R., Egito, A.A., Mariante, A. da S., Albuquerque, M. do S.M. (2003) Conservation of genetic resources of the small populations of domestic animal of the Amazon Region in Brazil. *AGRI*. **33**, 31–40.
- Marques, J.R.F., Costa, M.R., Silva, A.O.A. (2001) Banco de recursos genéticos animais. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. **21**.
- Marques, J.R.F., Figueiró, M.R., Saraiva, N.Z., Leal, R.P., Sales, R.L., Costa, M.R. (2016) Equinos em Conservação na Ilha de Marajó, Amazônia, Brasil. *RG News - Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos*. **2**(2), 18–28.
- Marques, J.R.F., Figueiredo, M.R., Costa, J.S., Marques, L.C., Costa, M.R. (2012) O minicavalo (*Equus caballus*) Puruca da Ilha de Marajó - Brasil. In *II Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos*.
- Maury, W., Oaks, J.L., Bradley, S. (1998) Equine endothelial cells support productive infection of Equine infectious anemia virus. *Journal of Virology*. **72**(11), 9291–7.
- McConnico, R.S., Issel, C.J., Cook, S.J., Cook, R.F., Floyd, C., Bisson, H. (2000) Predictive methods to define infection with equine infectious anemia virus in foals out of reactor mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. **20**(6), 387–392.
- McManus, C., Marques, J.R.F., Paiva, S., Seixas, L. (2010) Cavalos Marajoara e Puruca. *INCT: Informação Genético-Sanitária da Pecuária Brasileira. Série Técnica: Genética*, 1–7.
- Mealey, R.H., Sharif, A., Ellis, S.A., Littke, M.H., Leib, S.R., McGuire, T.C. (2005) Early detection of dominant Env-specific and subdominant Gag-specific CD8+ lymphocytes in equine infectious anemia virus-infected horses using major histocompatibility complex class I/peptide tetrameric complexes. *Virology*. **339**(1), 110–126.
- Naves, J.H.F.D.F., Oliveira, F.G., Bicalho, J.M., Santos, P.S., Avila, R.A.M., Chavez-Olortegui, C., Leite, R.C., Reis, J.K.P. (2019) Serological diagnosis of equine infectious anemia in horses, donkeys and mules using an ELISA with a gp45 synthetic peptide as antigen. *Journal*

of *Virological Methods*. **266**, 49–57.

Newell, M.-L. (2000) Vertical transmission of HIV-1 infection. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **19**(1), 1–2.

Nogueira, M.F., Oliveira, J.M., Santos, C.J.S., Petzold, H. V., Aguiar, D.M., Juliano, R.S., Reis, J.K.P., Abreu, U.G.P. (2017) Equine infectious anaemia in equids of Southern Pantanal, Brazil: Seroprevalence and evaluation of the adoption of a control programme. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. **37**(3), 227–233.

Nogueira, M.F., Reis, J.K.P., Oliveira, Jacqueline Marques Montezuma, E. de S., Santos, C.J.S., Barros, A.T.M. de (2011) Ocorrência de AIE em potros de éguas soropositivas no Pantanal do Mato Grosso do Sul. *Embrapa Pantanal. Comunicado Técnico* 87.

O'Rourke, K., Perryman, L.E., McGuire, T.C. (1988) Antiviral, anti-glycoprotein and neutralizing antibodies in foals with Equine infectious anaemia Virus. *The Journal of General Virology*. **69**, 667–674.

OIE (2019) Equine infectious anaemia. In *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2019*. World Organization For Animal Health. pp. 1–7.

OIE (2018) Equine infectious anaemia. In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018*. World Organization For Animal Health. pp. 1288–1293.

Overbaugh, J. (2014) Mother–Infant HIV Transmission: Do Maternal HIV-Specific Antibodies Protect the Infant? *PLoS Pathogens*. **10**(8), 1–3.

Payne, S.L., Roshlow, K., Dhruva, B.R., Issel, C.J., Montelaro, R.C. (1989) Localization of conserved and variable antigenic domains of equine infectious anemia virus envelope glycoproteins using recombinant env-encoded protein fragments produced in *Escherichia coli*. *Virology*. **172**(2), 609–15.

Petropoulos, C.J. (1997) Retroviral taxonomy, protein structures, sequences, and genetic maps. In *Retroviruses*, ed. Coffin J. M. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, USA, p. 757.

Quinlivan, M., Cook, F., Kenna, R., Callinan, J.J., Cullinane, A. (2013) Genetic characterization by composite sequence analysis of a new pathogenic field strain of equine infectious anemia virus from the 2006 outbreak in Ireland. *Journal of General Virology*. **94**, 612–622.

Reis, J.K.P., Cook, R.F. (2014) Anemia Infecciosa Equina: um problema ainda a ser resolvido. *Revista Vez em Minas*, 12–19.

Reis, S.P., Gonçalves, E.C., Silva, A., Schneider, M.P. (2008) Genetic variability and efficiency of DNA microsatellite markers for paternity testing in horse breeds from the Brazilian Marajó archipelago. *Genetics and Molecular Biology*. **31**(1), 68–72.

Ricotti, S., Garcia, M.I., Veaute, C., Bailat, A., Lucca, E., Cook, R.F., Cook, S.J., Soutullo, A. (2016) Serologically silent, occult Equine infectious anemia virus (EIAV) infections in horses. *Veterinary Microbiology*. **187**(April), 41–49.

Romero, C.H., Cruz, G.B., Rowe, C.A. (1983) Transmission of bovine leukaemia virus in milk. *Tropical Animal Health and Production*. **51**(4), 215–8.

Rwambo, P.M., Issel, C.J., Adams, W. V., Hussain, K.A., Miller, M., Montelaro, R.C. (1990) Equine infectious anemia virus (EIAV) humoral responses of recipient ponies and antigenic variation during persistent infection. *Archives of Virology*. **111**(3–4), 199–212.

- Schaan, D. (2010) Long-term human induced impacts on Marajó Island landscapes, Amazon estuary. *Diversity*. **2**, 182–206.
- Schwartz, E.J., Nanda, S., Mealey, H. (2015) Antibody Escape Kinetics of Equine Infectious Anemia Virus Infection of Horses. *Journal of Virology*. **89**(13), 6945–6951.
- Scicluna, M.T., Autorino, G.L., Cook, S.J., Issel, C.J., Cook, F.R., Nardini, R. (2019) Validation of an immunoblot assay, employing an objective reading system, used as a confirmatory test in equine infectious anaemia surveillance programs. *Journal of Virological Methods*.
- Scicluna, M.T., Issel, C.J., Cook, F.R., Manna, G., Cersini, A., Rosone, F., Frontoso, R., Caprioli, A., Antonetti, V., Luca, G. (2013) Is a diagnostic system based exclusively on agar gel immunodiffusion adequate for controlling the spread of equine infectious anaemia? *Veterinary Microbiology*.
- Sellon, D.C. (1993) Equine Infectious Anemia. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. **9**(2), 321–336.
- Shen, D.T., Gorham, R.J., McGuire, T.C. (1984) Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of equine infectious anemia antibody to purified P26 viral protein. *American Journal of Veterinary Research*. **45**(8).
- Silva, R.A.M.S., Abreu, U.G.P. de, Barros, A.T.M. de (2001) Anemia infecciosa equina: epizootiologia, prevenção e controle no Pantanal. *Embrapa Pantanal - Circular Técnica*, **29**, 1–32.
- Silva, R.A.M.S., Barros, A.T.M., Neto, A.A.C., Lopes, N., Cortada, V.M.C., Matsuura, T.M. de S.M., Feldens, O., Mori, A.E., Madureira, J., Santos, S.A.A. de P., Baldini, O. (2004) Programa de prevenção e controle da anemia infecciosa equina no Pantanal Sul-Mato-Grossense. *Embrapa Pantanal - Documentos* **68**, 1–19.
- Silva, R.A.M.S., Seidl, A., Ramirez, L., Dávila, A.M.R. (2002) Trypanosoma evansi e trypanosoma vivax: biologia, diagnóstico e controle. *Embrapa Pantanal*, 137.
- Spickler, A.R. (2009) Equine infectious anemia. *The Center for Food Security & Public Health. Factsheet*.
- Spyrou, V., Papanastassopoulou, M., Psychas, V., Billinis, C., Koumbati, M., Vlemmas, J., Koptopoulos, G. (2003) Equine infectious anemia in mules: virus isolation and pathogenicity studies. *Veterinary Microbiology*. **95**(1–2), 49–59.
- Stein, C.D., Mott, L.O. (1946) Equine Infectious Anemia in Brood Mares and Their Offspring. *Veterinary Medicine*. **41**, 274–8.
- Stein, C.D., Mott, L.O. (1947) Equine infectious anemia in the Unites State with special reference to the recent outbreak in New England. *Proc US Livestock Sanitary Association*, 37–52.
- Tang, Y.-D., Na, L., Fu, L.-H., Yang, F., Zhu, C., Tang, L., Li, Q., Wang, J., Li, Z., Wang, Xue-feng, Li, C., Wang, Xiaojun, Zhou, J. (2015) Double-stranded RNA-specific adenosine deaminase 1 (ADAR1) promotes EIAV replication and infectivity. *Virology*. **476**, 364–371.
- Tang, Y.-G., Zhang, X., Na, L., Wang, X.-F., Fu, L.-H., Zhu, C.-H., Wang, X., Zhou, J.-H. (2016) Double-stranded-RNA-specific adenosine deaminase 1 (ADAR1) is proposed to contribute to the adaptation of equine infectious anemia virus from horses to donkeys. *Archives of Virology*. **161**(10), 2667–2672.
- Tashjian, R.J. (1984) Transmission and clinical evaluation of an equine infectious anemia herd

and their offspring over a 13-year period. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. **184**(3), 282–8.

Tu, Y.-B., Zhou, T., Yuan, X.-F., Qiu, H.-J., Xue, F., Sun, C.-Q., Wang, L., Wu, D.-L., Peng, J.-M., Kong, X.-G., Tong, G.-Z. (2007) Long terminal repeats are not the sole determinants of virulence for equine infectious anemia virus. *Archives of Virology*. **152**, 209–218.

USDA (2020) Animal Disease Information - Equine Infectious Anemia (EIA). United States Department Of Agriculture. [online]. Disponível em: <<https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/equine/eia>>. Acesso em: 28 de abril de 2021.

USDA (2007) Equine infectious anemia: Uniform Methods and Rules. United States Department of Agriculture.

USDA (2016) Equine infectious anemia (EIA) - Concept for Federal Regulations. Veterinary Services. United States Department of Agriculture.

USDA (2006) Info Sheet - Equine Infectious Anemia (EIA). Veterinary Services - Centers for Epidemiology and Animal Health. United States Department of Agriculture.

Wang, H., Rao, D., Fu, X., Hu, M., Dong, J. (2018) Equine infectious anemia virus in China. *Oncotarget*. **9**(1), 1356–1364.

Williams, D.L., Issel, C.J., Steelman, C.D., Jr, W.V.A., Benton, C. V (1981) Studies with Equine Infectious Anemia Virus: Transmission Attempts by Mosquitoes and Survival of Virus on Vector Mouthparts and Hypodermic Needles, and in Mosquito Tissue Culture. *American Journal of Veterinary Research*. **42**(9), 1469–1473.

Zhang, B., Jin, S., Jin, J., Li, F., Montelaro, R.C. (2005) A tumor necrosis factor receptor family protein serves as a cellular receptor for the macrophage-tropic equine lentivirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **102**(28), 9918–9923.

8. ANEXOS

Anexo 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Prezado(a):

Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na situação de uma solicitação.

Protocolo CEUA: 171/2018

Título do projeto: Proposta de controle da anemia infecciosa equina na Ilha de Marajó, Pará (Brasil)

Finalidade: Pesquisa

Pesquisador responsável: Jenner Karlisson Pimenta dos Reis

Unidade: Escola de Veterinária

Departamento: Departamento de Medicina Veterinária Preventiva

Situação atual: Decisão Final - Aprovado

Aprovado na reunião do dia 09/07/2018. Validade: 09/07/2018 à 08/07/2023

Belo Horizonte, 09/07/2018.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefone: (31) 3409-4516
www.ufmg.br/bioetica/ceua - cetea@prpq.ufmg.br