



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

CÉLIO SOUZA DA ROCHA

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DA ESTOMATITE VESICULAR A PARTIR DAS  
NOTIFICAÇÕES DE SUSPEITA DE SÍNDROME VESICULAR NO ESTADO DO  
CEARÁ, BRASIL.**

MOSSORÓ-RN  
2018

CÉLIO SOUZA DA ROCHA

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DA ESTOMATITE VESICULAR A PARTIR DAS  
NOTIFICAÇÕES DE SUSPEITA DE SÍNDROME VESICULAR NO ESTADO DO  
CEARÁ, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. João Marcelo Azevedo  
de Paula Antunes - UFERSA

MOSSORÓ-RN  
2018

## FICHA CATALOGRÁFICA

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

R672a Rocha, Célio Souza da.  
Avaliação da ocorrência da Estomatite Vesicular  
a partir das notificações de suspeita de síndrome  
vesicular no Estado do Ceará, Brasil. / Célio  
Souza da Rocha. - 2018.  
58 f. : il.

Orientador: João Marcelo Azevedo de Paula  
Antunes.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal  
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em  
Ciência Animal, 2018.

1. Vesiculovirus. 2. Fatores de Risco. 3.  
Defesa Sanitária. I. Marcelo Azevedo de Paula  
Antunes, João, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

CÉLIO SOUZA DA ROCHA

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DA ESTOMATITE VESICULAR A PARTIR DAS  
NOTIFICAÇÕES DE SUSPEITA DE SÍNDROME VESICULAR NO ESTADO DO  
CEARÁ, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Aprovada em: 20 / 02 /2018.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes (UFERSA)  
(Orientador e Presidente)

---

Profa. Dr. Raimundo Alves Barreto Junior (UFERSA)  
(Segundo membro - interno)

---

Profa. Dra. Juliana Fortes Vilarinho Braga (UFERSA)  
(Terceiro membro - externo)

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**CÉLIO SOUZA DA ROCHA**, filho de Nilo Moreira da Rocha e Laura Maria Silveira de Souza Moreira da Rocha, nasceu em 28 de setembro de 1984, na cidade de Fortaleza - CE. Concluiu o ensino médio em 2002, no Colégio Farias Brito (em Fortaleza). Iniciou o ensino superior em março de 2004, na Universidade Estadual do Ceará (UECE), onde graduou-se como Bacharel em Medicina Veterinária, colando grau em maio de 2009. Durante a graduação realizou estágio extracurricular no Laboratório de Nutrição e Produção de Ruminantes - LANUPRUMI (junho/2006 - abril/2008); Foi monitor acadêmico da disciplina de Alimentação e Nutrição de Ruminantes (junho/2007 - fevereiro/2008); Foi Bolsista ITI-1A/CNPq (junho a dezembro de 2006) e fez estágio supervisionado na Clínica de Bovinos - Campus Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (novembro a dezembro de 2008) e na Clínica de Equinos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG (janeiro a fevereiro de 2009); Possui especialização em Vigilância Sanitária de Alimentos pela Universidade Estadual do Ceará - UECE (2013); É Fiscal Estadual Agropecuário da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará – ADAGRI (fevereiro/2010 - atual); Foi Coordenador substituto do Programa Estadual de Erradicação e Prevenção da Febre Aftosa - PEEFA da ADAGRI (junho/2011 – outubro/2016); Componente do Grupo Especial de Atenção a Suspeita de Enfermidades Emergenciais ou Exóticas – GEASE (novembro/2011 – atual) do Estado do Ceará. Ingressou em março de 2016 no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) tendo como linha de pesquisa Sanidade Animal.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha esposa Mariana Lopes Viana da Rocha e ao meu filho Eduardo Lopes Viana Souza da Rocha pelo amor, dedicação e apoio irrestrito nessa jornada.

Aos meus pais Nilo Moreira da Rocha e Laura Maria Silveira de Souza Moreira da Rocha, e meu irmão Ciro Luiz Souza da Rocha pelo amor e carinho que sempre me deram ao longo dessa vida.

Aos meus familiares em nome do meu grande avô Cyro Nazaré da Costa Souza por quem tenho grande admiração e amor.

Ao Prof. Dr. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes por sempre ter acreditado no meu potencial e ter me orientado contribuindo com o meu desenvolvimento científico.

A Profa. Dra. Cecília Calabuig pela importante contribuição nas análises estatísticas do trabalho.

Aos colegas servidores da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará que colaboraram bravamente para a obtenção dos dados que permitiram a elaboração desta pesquisa.

“O medo de amar é o medo de ser livre para o que der e vier, livre para sempre estar onde o justo estiver.”

Beto Guedes / Fernando Brant

## **AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DA ESTOMATITE VESICULAR A PARTIR DAS NOTIFICAÇÕES DE SUSPEITA DE SÍNDROME VESICULAR NO ESTADO DO CEARÁ, BRASIL.**

ROCHA, Célio Souza da. Avaliação da ocorrência da Estomatite Vesicular a partir das notificações de suspeita de síndrome vesicular no Estado do Ceará, Brasil. 2018. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2018. (Dissertação)

**RESUMO:** A estomatite vesicular possui importância sócio-econômica pois é considerada uma zoonose e interfere negativamente no rebanho com redução na produção de leite e perda de peso levando ao abate precoce. Os sinais clínicos são indiferenciáveis daqueles causados pelo vírus da Febre Aftosa por isso continua sendo classificada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento como doença que requer notificação imediata de qualquer caso suspeito sendo esta notificação obrigatória para qualquer cidadão e profissional que atue na área de diagnóstico, ensino ou pesquisa em saúde animal. Diante disso, este estudo objetivou investigar a ocorrência de focos de Estomatite Vesicular através dos casos suspeitos de síndrome vesicular notificados ao Serviço Veterinário Oficial do Estado do Ceará – Brasil. Durante o período de 2013 a 2015 foram realizadas 51 notificações de casos suspeitos de doença vesicular. Amostras de soro sanguíneo, epitélio e líquido esôfago-faríngeo foram coletadas de acordo com a característica das lesões encontradas e enviados ao Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO. Além disso, levantamento epidemiológico foi realizado para identificar prováveis fatores de risco para a ocorrência da enfermidade. Após diagnóstico laboratorial e epidemiológico, 24 propriedades foram consideradas focos. Foi possível detectar a presença de Vesiculovírus Indiana tipo 3 por fixação de complemento 50% em 8 focos. Não foram identificados fatores de risco para a ocorrência da enfermidade quando analisamos apenas os casos prováveis com diagnóstico laboratorial entretanto houve diferenças significativas entre focos e não focos quando analisamos todos os casos suspeitos. Os resultados demonstraram que a ocorrência de focos de Estomatite Vesicular no Estado do Ceará esteve relacionada a fatores de riscos específicos como tipo de criação, utilização de instalações ou equipamentos de vizinhos ou vice-versa, utilização de mão de obra de vizinhos ou vice-versa, animais do estabelecimento participam de eventos de aglomerações e proximidade ou divisa do estabelecimento com rodovias, lixões, aeroportos, frigorífico, laticínios entre outros quando os critérios epidemiológicos foram levados em consideração entretanto, tais achados só podem ser levados em consideração para fins de investigação epidemiológica de casos suspeitos e mitigação de riscos. Portanto, se faz necessário maiores estudos para descrever a transmissão desse agente infeccioso entre os rebanhos susceptíveis no Estado através do fortalecimento do sistema de defesa sanitária.

Palavras-chave: Vesiculovírus. Fatores de risco. Defesa sanitária.

## **EVALUATION OF VESICULAR STOMATITIS OCCURRENCE FROM REPORTS OF SUSPECTED VESICULAR SYNDROME IN THE STATE OF CEARÁ, BRAZIL.**

ROCHA, Célio Souza da. Evaluation of the occurrence of Vesicular Stomatitis from reports of suspicion of vesicular syndrome in the State of Ceará, Brazil. 2018. 58f. Thesis (Master of Animal Science) - Federal Rural Semi-Arid University (UFERSA), Mossoró-RN, 2018. (Dissertation)

**ABSTRACT:** Vesicular stomatitis has socioeconomic importance because it is considered a zoonosis and negatively interferes in the herd with reduction of milk production and weight loss leading to early slaughter. The clinical signs are indistinguishable from those caused by the foot-and-mouth disease virus, so it continues to be classified by the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply as a disease which requires immediate notification of any suspected cases, and this notification is mandatory for any citizens and practitioners who deal with diagnosis, teaching or animal health research. Therefore, this study aimed to investigate the occurrence of vesicular stomatitis foci by analysing suspected cases of vesicular syndrome reported to the Official Veterinary Service of the State of Ceará - Brazil. During the period from 2013 to 2015, 51 out of suspected cases of vesicular disease were reported. Samples of blood serum, epithelium and esophagus-pharyngeal fluid were collected according to the characteristic of the injuries found and sent to the National Agricultural and Livestock Laboratory - LANAGRO. In addition, an epidemiological survey was performed to identify probable risk factors for the occurrence of the disease. After laboratory and epidemiological diagnosis, 24 properties had foci. It was possible to detect the presence of vesiculovirus type 3 Indiana by 50% complement fixation in 8 outbreaks. No risk factors were identified for the occurrence of the disease when we analysed only the probable cases with laboratory diagnosis. However, there were significant differences between foci and non-foci when we analysed all the suspected cases. The results showed that the occurrence of Vesicular Stomatitis foci in the State of Ceará was related to specific risk factors such as Kind of breeding, uses neighbors' facilities or equipment or vice versa, uses labor from neighbors or vice versa, animals of the establishment participate in agglomeration events and Proximity to properties with motorways, dumps, airports, cold stores, dairy, among others when the epidemiological criteria were taken into account. However, such findings can only be taken into account for the purpose of epidemiological investigation of suspected cases and risk mitigation. Therefore, further studies are needed to describe the transmission of this infectious agent among the susceptible herds in the State through the strengthening of the health defense system.

Keywords: Vesiculovírus. Risk factor. Health protection.

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	09
2.	<b>OBJETIVOS.....</b>	12
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	12
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3.	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	13
4.	<b>ARTIGO CIENTÍFICO 1.....</b>	15
5.	<b>ARTIGO CIENTÍFICO 2.....</b>	29
	<b>APÊNDICE .....</b>	46
	<b>ANEXOS .....</b>	52

## 1 INTRODUÇÃO

Estomatite vesicular é uma enfermidade viral causada por um vírus que pertence à Família *Rhabdoviridae*, gênero *Vesiculovirus* (ICTV, 2017). Existem dois tipos imunologicamente distintos do vírus da Estomatite Vesicular, classificados como New Jersey e Indiana (ALONSO FERNANDES; SONDHAL, 1985). Este último subdividido em três subtipos com características antigênicas distintas: Indiana I (amostra clássica), Indiana II (Cocal e Argentina) e Indiana III (Alagoas) (FEDERER et al., 1967). Acomete principalmente bovinos e equinos, ocasionalmente, suínos, ovinos, caprinos, lhamas e alpacas. Os seres humanos também podem ser acometidos pela doença durante o tratamento dos animais infectados, mas este é um caso raro. A Estomatite vesicular tem sido confirmada apenas no Hemisfério Ocidental. É conhecida por ser uma doença endêmica nas regiões mais quentes das Américas do Norte, Central e do Sul porém surtos da doença em regiões geograficamente temperadas de partes do hemisfério ocorrem esporadicamente (USDA, 2012).

Depois de ter sido introduzida em um rebanho, a Estomatite Vesicular pode se espalhar de animal para animal através do contato direto entre animais infectados que eliminam o vírus através do líquido vesicular, saliva e, em menor grau, de secreções nasais com o epitélio rompido ou mucosas dos animais sadios facilitando a entrada do vírus, e também podem ser infectados pela exposição a fômites contaminados, incluindo alimentos, água e máquinas de ordenha (ISU, 2008).

No Brasil, a enfermidade foi diagnosticada pela primeira vez na década de 60 em Alagoas causada pelo subtipo Indiana-3 (FEDERER et al., 1967) e em São Paulo pelo subtipo Indiana-2 (NETTO et al., 1967). Nos últimos 10 anos, foram relatados vários casos de doença vesicular (ou seja, suspeita de Estomatite Vesicular ou Febre Aftosa) na América do Sul, especialmente no nordeste e norte do Brasil.

Nos últimos anos, vários surtos de Estomatite Vesicular foram relatados nos Estados brasileiros da região Centro-Oeste e Nordeste (ROSENDO et al, 2013; CARGNELUTTI et al., 2014). Relatórios do PANAFTOSA (2010) também indicaram atividade viral nos estados do Nordeste nos últimos anos. Em 2013, surtos de Estomatite Viral foram relatados em equinos e bovinos nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte, com a identificação de subtipo Indiana III (CARGNELUTTI et al., 2014).

Lunkes et al. (2016) investigaram a circulação viral do Indiana III (Alagoas) em três regiões do brasileiras: Sul, Centro-Oeste e Nordeste. Os resultados indicaram que a região

Nordeste (CE, RN e PB juntos) apresentaram uma atividade viral mais ampla, em contraste com a circulação viral no Centro-Oeste e Sul, cuja reação imunológica provavelmente reflete uma frequência baixa e atividade viral remota.

O modo pelo qual o vírus da Estomatite Vesicular é mantido na natureza durante os surtos endêmicos e epidêmicos e a forma de transmissão não estão totalmente esclarecidos (VANLEEUWEN et al., 1995; BRIDGES et al., 1997).

Segundo MANSON (1978), uma característica típica da Estomatite Vesicular é sua distribuição irregular. Freqüentemente, não são observados casos em propriedades adjacentes às afetadas. Os surtos, geralmente, aparecem após as chuvas, em locais com crescimento vegetativo exuberante e diminuem durante as semanas quentes de verão, reaparecendo após as chuvas de outono. Tal fato tem sugerido a disseminação pelo vento, pássaros e insetos vetores (TESH et al., 1970). O vírus foi isolado a partir de mosquitos *Phlebotomus* e *Aedes*, indicando o seu possível papel na transmissão do vírus (HAYEK et al., 1998). De acordo com a OIE (2010), os cavalos são particularmente susceptíveis à infecção por vesiculovírus em comparação com bovinos e suínos. Participação dos animais em feiras, centros de inseminação artificial e outros eventos parecem facilitar a disseminação viral entre os animais susceptíveis (OKUDA et al., 2003).

Segundo Riet-Correa et al. (2007), sob o ponto de vista epidemiológico existe a suspeita de se tratar de enfermidade transmitida por vetores com base em: incidência sazonal, limitação ecológica, rapidez e forma de disseminação; replicação em mosquitos com transmissão transovariana (demostrada no vírus Indiana); e persistência do vírus em regiões selváticas, sob forma independente do ciclo de infecção dos animais domésticos.

Alguns autores compartilham da hipótese de que o vírus da Estomatite Vesicular seja um vírus de planta que sofre uma modificação no interior do inseto quando este se alimenta da planta infectada (JOHNSON et al., 1969; TESH et al., 1970). Desta forma, o inseto disseminaria o vírus para outras plantas e, possivelmente, para os animais que se alimentassem dessas plantas ou fossem picados pelo inseto. Isto explicaria a elevada morbidade da Estomatite Vesicular em determinadas áreas e possivelmente a distribuição irregular nas áreas afetadas (DE STEFANO et al., 2002).

A Estomatite vesicular é classificada pelo Serviço Veterinário Oficial como uma doença que requer notificação imediata de qualquer caso suspeito sendo esta notificação obrigatória para qualquer cidadão, bem como para todo profissional que atue na área de diagnóstico, ensino ou pesquisa em saúde animal (BRASIL, 2013).

Um dos principais indicadores de eficiência do sistema de vigilância veterinária é o número de atendimentos a suspeitas de doenças vesiculares realizado pelo serviço veterinário oficial. A ausência de atendimentos pode significar tanto verdadeira ausência de ocorrência dos sinais clínicos compatíveis com doenças vesiculares, quanto falta de motivação ou de preparação da comunidade local para comunicação de notificações, comprometendo a qualidade e a credibilidade da vigilância (BRASIL, 2009).

Em virtude da Estomatite Vesicular ser clinicamente confundível com a Febre Aftosa, que está em fase de erradicação em alguns Estados brasileiros, e também devido ao comércio internacional de animais e de seus produtos e subprodutos, é imprescindível que se realize o diagnóstico diferencial com a Febre Aftosa (DE STEFANO et al., 2003).

O diagnóstico definitivo deve considerar o isolamento e identificação do agente viral. Diagnóstico com base em resultados sorológicos deve estar fundamentado em análises clínicas e epidemiológicas mais apuradas, envolvendo avaliação clínica de um maior número de animais, aumento do número de amostras e investigação em propriedades rurais localizadas nas vizinhanças (BRASIL, 2009). Durante investigação oficial, muitos casos suspeitos de doença vesicular acabam por serem associados a causas diversas como pododermatites, traumatismo, intoxicação dentre outras.

Portanto, se faz necessário estudos com a finalidade de se investigar a presença do Vesiculovírus no Estado do Ceará e suas associações epidemiológicas para buscar o fortalecimento dos Programas Sanitários de Prevenção e Erradicação da Estomatite Vesicular bem como evitar riscos de contaminação humana e prejuízo ao setor produtivo da pecuária estadual.

## **2 OBJETIVOS**

### **1. Geral**

Investigar a ocorrência de focos de Estomatite Vesicular através dos casos suspeitos de síndrome vesicular notificados ao Serviço Veterinário Oficial (SVO) do Estado do Ceará – Brasil .

### **2. Específicos**

- Detectar subtipo viral predominante no Estado.
- Identificar os possíveis fatores de risco associados à ocorrência da Estomatite Vesicular no Estado do Ceará – Brasil a partir de variáveis explicativas relacionadas às características das propriedades e rebanhos envolvidos.
- Avaliar a atuação dos agentes sociais envolvidos na vigilância ativa e passiva durante a notificação dos casos suspeitos de síndrome vesicular notificados ao Serviço Veterinário Oficial.

### **3 REFERÊNCIAS**

BRIDGES, V. E., et al. Review of the 1995 vesicular stomatitis outbreak in the western United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.211, n.5. p.556-560, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano de ação para Febre Aftosa – Volume I**. Brasília-DF. MAPA/SDA/DSA. 96p, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 50 de 24 set. 2013**. Estabelece lista de doenças de notificação obrigatória pelo serviço veterinário oficial. Diário Oficial da União, seção 1, nº 186, pág 47, 25 set. 2013.

CARGNELUTTI, J. F., et al. Outbreaks of Vesicular stomatitis Alagoas virus in horses and cattle in northeastern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.26(6), p.788–794, 2014.

DE STEFANO, E., et al. Revisão bibliográfica. Estomatite Vesicular. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.3, p.127-133, 2002.

DE STEFANO, E., et al. Pesquisa de anticorpos contra o vírus da Estomatite Vesicular em bovinos de corte criados na região de Araçatuba, Estado de São Paulo, Brasil em 2000. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. Ed.40(1), 2003.

FEDERER, K. T.; BURROWS, R.; BROOKSBY, J. B. Vesicular stomatitis vírus the relationship between some strains os the indiana serotype. **Research in Veterinary Science**. v.8, p.103-107, 1967.

FERNANDEZ, A. A.; SÖNDAHL, M. S. Caracterizacion antigenica e immunogenica de varias cepas del sorotipo Indiana de estomatitis vesicular aisladas en Brasil. **Boletin del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa**, v.51, p.23-26, 1985.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, VIROLOGY DIVISION – IUMS, ICTV. **ICTV Online (10th) Report**. 2017. Disponível em: [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_online\\_report/negative-sense-rna-viruses/mononegavirales/w/rhabdoviridae/805/genus-vesiculovirus](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/negative-sense-rna-viruses/mononegavirales/w/rhabdoviridae/805/genus-vesiculovirus) . Acesso em: 15 dez. 2017.

HAYEK, A. M., et al. Financial impact of the 1995 outbreak of vesicular stomatitis on 16 beef ranches in Colorado. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.212, n.6, p.820-823, 1998.

IOWA STATE UNIVERSITY, THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH - ISU. **Vesicular Stomatitis. Sore Mouth of Cattle and Horses, Indiana Fever**. Disponível em: [http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/vesicular\\_stomatitis.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/vesicular_stomatitis.pdf) . Acesso em: 23 out. 2015.

JOHNSON, K. M. et al. Epidemiology of vesicular stomatitis virus: some new data and a hypothesis for transmission of the Indiana serotype. **Journal of the American Veterinary**

**Medical Association**, v.155, p.2133-2140, 1969.

LUNKES, V. L., et al. Antibodies against vesicular stomatitis virus in horses from southern, midwestern and northeastern Brazilian States. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.46, n.8, ago, 2016.

MASON, J. La Epidemiologia de la estomatitis vesicular. **Boletin del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa**. n.29/30, p.13-33, 1978.

NETTO, L. P.; PINTO, A. A. E.; SUGA, O. Isolamento do vírus, identificação sorológica e levantamento epizootiológico de um surto de Estomatite Vesicular no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, 34: 69-72, 1967.

OIE. World Organisation For Animal Health. Vesicular stomatitis. **OIE Terrestrial Manual 2010**, 1 may. 2010. Disponível em: <[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.01.19\\_VESICULAR\\_STOMITIS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.19_VESICULAR_STOMITIS.pdf)>. Acesso em: 10 ago. 2016.

OKUDA, L. H., et al. Vesicular stomatitis: monitoring in semen donor bulls of an artificial insemination center. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, p.11-15, 2003. Disponível em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V70\\_1/okuda.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V70_1/okuda.pdf)>. Acesso em: 11 ago. 2016.

PANAFTOSA. Centro Panamericano De Fiebre Aftosa Salud Pública Veterinária. **Informes PANAFTOSA**. Listserv 16.0, 1 may. 2010. Disponível em: <<http://listserv.paho.org/scripts/wa.exe?A0=INFORMES-PANAFTOSA>>. Acesso em: 20 ago. 2016.

RIET-CORREA, F., et al. **Doenças dos ruminantes e equídeos**. Santa Maria: Pallotti, ed. 8, v.2, 108p, 2007.

ROSENDÓ, A. R. G. V., et al. Estomatite vesicular no município Umarizal, estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.11, n.3, p.57-57, 2013. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz/article/view/19563/20401>>. Acesso em: 20 jul. 2016.

TESH, R. B.; PERALTA, P. H.; JONHSON, K. M. Ecologic studies of vesicular stomatitis virus. **The American Journal of Epidemiology**, v.91, p.216- 224, 1970.

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, ANIMAL AND PLANT HEALTH INSPECTION SERVICE, VETERINARY SERVICES – USDA. **Vesicular stomatitis**. Disponível em : [https://www.aphis.usda.gov/wps/portal/aphis/ourfocus/animalhealth/sa\\_animal\\_disease\\_information/sa\\_equine\\_health/sa Vesicular\\_stomatitis/ct\\_Vesicular\\_stomatitis/?ut/p/a0/04\\_Sj9CPy kssy0xPLMnMz0vMAfGjzOK9\\_D2MDJ0MjDzdgy1dDTz9wtx8LXzMjf09TPQLsh0VAZdi hIg!/](https://www.aphis.usda.gov/wps/portal/aphis/ourfocus/animalhealth/sa_animal_disease_information/sa_equine_health/sa Vesicular_stomatitis/ct_Vesicular_stomatitis/?ut/p/a0/04_Sj9CPy kssy0xPLMnMz0vMAfGjzOK9_D2MDJ0MjDzdgy1dDTz9wtx8LXzMjf09TPQLsh0VAZdi hIg!/). Acesso em: 21 out. 2015.

VANLEEUWEN, J. A.; RODRIGUEZ, L. L.; WALTNER-TOEWS, D. Cow, farm and ecologic risk factors of clinical vesicular stomatitis on Costa Rican dairy farms. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.53, n.4, p.342-350, 1995.

#### **4 ARTIGO CIENTÍFICO 1 – Submetido à Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**

Detecção de Vesiculovírus sorotipo Indiana III (Alagoas/VSAV) durante surtos de Estomatite Vesicular no Estado do Ceará, Brasil.

Detection of Vesiculovirus serotype Indiana III (Alagoas/VSAV) during outbreaks of Vesicular Stomatitis in the State of Ceará, Brazil.

Célio Souza da Rocha<sup>a,b</sup>, Ilanna Vanessa Pristo de Medeiros Oliveira<sup>a</sup>, Gabriela Hemylin Ferreira Moura<sup>a</sup>, José Artur Brilhante Bezerra<sup>a</sup>, Fernanda Cristina Macedo Rondon<sup>c</sup>, David Caldas Vasconcelos<sup>b</sup>, Mônica Marcos de Almeida<sup>b</sup>, João Marcelo Azevedo de Paula Antunes<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado, Departamento de Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – Av. Francisco Mota, 572 - Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil, CEP: 59625-900. <sup>b</sup> Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará, Av. Bezerra de Menezes, 1820 - São Gerardo, Fortaleza – CE, Brasil, CEP: 60325-002. <sup>c</sup> Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. - UECE Itaperi. CEP: 60714903 - Fortaleza, CE - Brasil

\*Autor correspondente: joao.antunes@ufersa.edu.br

#### Resumo.

Além de ser considerada zoonose, os sintomas da Estomatite Vesicular (EV) são indiferenciáveis daqueles causados pelo vírus da Febre Aftosa (FA) por isso continua sendo classificada nacionalmente como doença de notificação imediata de qualquer caso suspeito. Diante disso, o objetivo do estudo foi detectar o sorotipo viral predominante nos 24 focos de EV notificados ao Serviço Veterinário Oficial (SVO) do Ceará. Amostras de soro, epitélio e líquido esôfago-faríngeo (LEF) foram coletadas de acordo com a característica das lesões encontradas. Previamente, nenhuma amostra de soro bovino foi reagente para FA por ELISA 3ABC e/ou 3ABC/EITB, também não foram detectados fragmentos de RNA do Aphtovírus por RT-PCR nas amostras de LEF. As análises sorológicas de bovinos e equinos demonstraram que 16 dos 54 animais amostrados apresentaram soroconversão para Vesiculovírus Indiana (VSIV) por neutralização viral. Nas amostras de epitélio foi possível

tipificar o VSIV em 15 bovinos por ELISA *Sandwich* indireto e em outros 02 bovinos por qRT-PCR. Por fim, foi realizada a subtipificação viral por fixação de complemento 50% identificando a presença do sorotipo Indiana III (Alagoas/VSAV) em 11 amostras de epitélio. Estes foram os primeiros casos reportados oficialmente pelo SVO como Foco de EV com diagnóstico laboratorial confirmatório para VSAV no Estado do Ceará.

Palavras-chave: Aphtovírus, Vesiculovírus, Vigilância epidemiológica.

#### Abstract.

Besides being considered a zoonosis, the symptoms of Vesicular Stomatitis (VS) are indistinguishable from those caused by the Foot-and-mouth disease (FMD) virus so it continues to be classified as an illness of immediate notification of any suspected case. Therefore, the objective of the study is to detect the predominant viral serotype in 24 outbreaks of VS reported to the Official Veterinary Service (OVS) in the state of Ceará, Brazil. Samples of the serum, epithelium and esophagus-pharyngeal fluid (EPF) were collected according to the degree of the lesions found. Previously, no bovine serum samples were FA reagent by 3ABC or 3ABC/EITB ELISA, no Aphtovirus RNA fragments were detected by qRT-PCR in EPF samples. Serological analyses of cattle and equines showed that 16 of the 54 sampled animals presented seroconversion to Indian Vesiculovirus (VSIV) by viral neutralization. In the epithelial samples it was possible to classify VSIV in 15 bovines by indirect Sandwich ELISA and another 02 bovines by qRT-PCR. Eventually, viral subtypification was carried out by 50% complement fixation, identifying the presence of the Indiana III serotype (Alagoas/VSAV) in 11 epithelial samples. These were the first cases officially reported by OVS as VS Focus with a confirmatory laboratory diagnosis for VSAV in the State of Ceará.

Keywords: Aphtovirus, Vesiculovirus, Epidemiological monitoring.

#### Introdução.

A infecção por Vesiculovírus (VSV) em animais e vegetais ocorre em todo o mundo, principalmente no Hemisfério ocidental. As espécies virais New Jersey, Indiana I (Clássica), Indiana II (Cocal) e Indiana III (Alagoas) são importantes para a saúde pública veterinária porque são o agente causal de Estomatite Vesicular (EV), clinicamente semelhante a Febre Aftosa (FA). Em suínos, a enfermidade deve ser diagnosticada diferenciada da FA, doença vesicular do suíno (DVS) e Exantema vesicular (EV), bem como nos bovinos, bubalinos e

pequenos ruminantes, a doença deve ser distinguida laboratorialmente da FA (BRASIL, 2009). A importância socioeconômica da EV está relacionada à sua capacidade de infectar o homem e afetar a produtividade do rebanho devido as lesões vesiculares e erosões de boca, bandas coronárias e tetos que levam a diminuição da produção de leite, causando mastite secundária e abate precoce. (GOODGER et al., 1985).

As únicas variantes epidemiologicamente importantes do vírus da EV no Brasil são os subtipos Indiana II e III. O subtipo viral Indiana II foi isolado nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul em dois episódios separados com 10 anos de diferença, sem evidência de conexão epidemiológica entre eles (FERNÁNDEZ; SONDAHL, 1985; LÓPEZ et al., 1997). Em 1998 e 1999, nos Estados do Paraná e de Santa Catarina, foram registrados dois focos de EV pelo subtipo Indiana II e até o ano de 2011 não houve mais nenhum registro desse subtipo no País. O subtipo Indiana I nunca foi detectado no Brasil. As definições de casos confirmados de EV no país devem levar em consideração a ocorrência endêmica do subtipo Indiana III, a ocorrência esporádica do subtipo Indiana II e a condição indene para o subtipo Indiana I e para o sorotipo New Jersey (BRASIL, 2012).

A infecção pelo VSV é considerada endêmica no Nordeste e no Norte do Brasil porém os relatos de casos ou surtos estão praticamente ausentes da literatura científica e, como tal, esta informação se torna escassa no meio acadêmico. Lunkes et al. (2016), investigaram a circulação viral do Indiana III (Alagoas/VSAV) em três regiões brasileiras e observaram que a região nordeste apresentou uma atividade viral mais ampla em contraste com o Centro-Oeste e Sul. Segundo dados oficiais, vários casos suspeitos acabam sendo atribuídos a outras causas infecciosas ou não infecciosas, por outro lado a subnotificação de VSV provavelmente também ocorre, contribuindo para um conhecimento incompleto da situação epidemiológica real (CARGNELUTTI et al., 2014).

Assim como na FA, são necessárias estratégias para prevenir a emergência de surtos e erradicar os focos confirmados de EV, como vigilância ativa ou passiva e controle sanitário rigoroso. A prevenção e a erradicação está diretamente associada a ações governamentais do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em estreita colaboração com todos os Serviços Veterinários Oficiais (SVO) dos Estados brasileiros para detectar qualquer suspeita de doença vesicular (LAGUARDIA-NASCIMENTO et al., 2016). Portanto, o presente estudo teve como objetivo detectar o sorotipo viral predominante nos surtos epidêmicos de EV a partir das notificações de casos suspeitos de doença vesicular submetidas ao SVO do Estado do Ceará.

## Material e Métodos.

O estudo foi realizado de acordo com o Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) - UFERSA (nº 23091.003999/2016-3). Todos os procedimentos seguiram as diretrizes estabelecidas pelo Plano de Ação para Febre Aftosa - volume I (BRASIL, 2009). Os dados foram compilados e analisados após autorização oficial por meio de processo administrativo VIPROC Nº 8108013/2013 – ADAGRI.

O Estado do Ceará possui uma área de 148.886,3 km<sup>2</sup>, equivalente a 9,58% da área pertencente à região Nordeste e 1,75% da área do Brasil. Desta forma, é o 4º maior Estado da região Nordeste e o 17º entre os Estados brasileiros em termos de extensão territorial possuindo rebanho de animais susceptíveis a EV de 2.546.134 bovinos, 2.027 bubalinos, 2.098.893 ovinos, 1.167.731 suínos, 1.024.594 caprinos, 194.465 asininos, 138.346 equinos e 80.741 muares (CEARÁ, 2013). No ano de 2013, o SVO do Estado do Ceará recebeu 46 notificações de casos suspeitos de doença vesicular (Fig. 01) onde foram realizadas investigações epidemiológicas para confirmação dos casos prováveis com colheita de amostras e envio ao Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) em Pedro Leopoldo-MG e Belém-PA para diagnóstico oficial confirmatório.

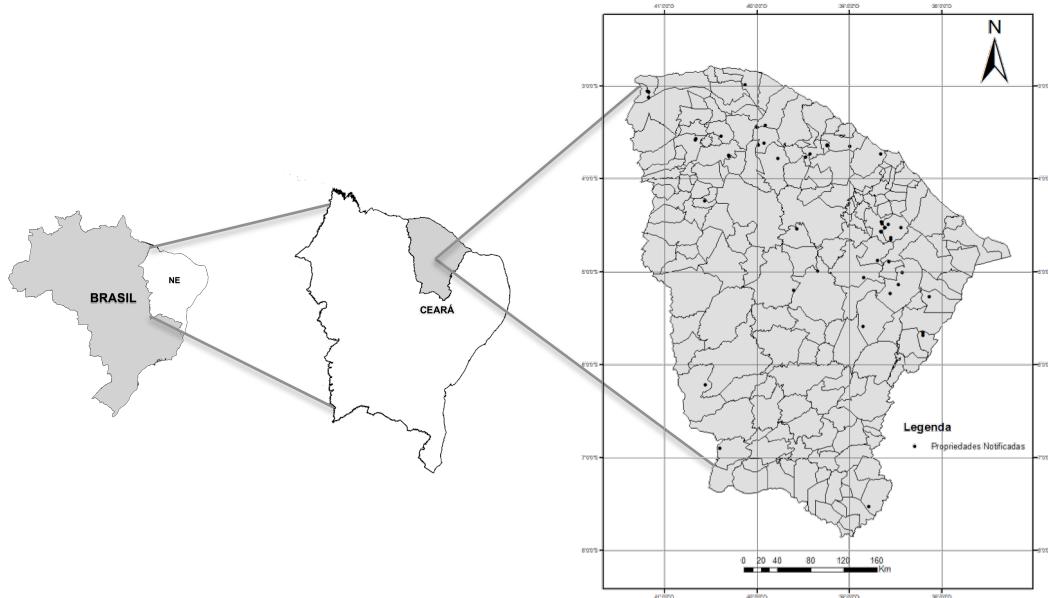


Figura 01. Propriedades notificadas como casos suspeitos de doença vesicular no Estado do Ceará.

Os animais das propriedades investigadas foram contidos mecanicamente e submetidos ao exame clínico com finalidade de confirmar a presença de sintomatologia sugestiva para doença vesicular. Na ausência de sinais clínicos compatíveis e vínculos epidemiológicos associados, a propriedade era considerada caso descartado de doença

vesicular apresentando diagnóstico clínico-epidemiológico final. Na presença de animais sintomáticos para síndrome vesicular, foram realizadas colheitas de amostras de acordo com o grau de preservação ou cicatrização das vesículas. Em animais com vesículas íntegras ou recém rompidas foram coletados cerca de 2g de tecido epitelial e armazenados em tubos de ensaio estéril com líquido de Valleé com pH de 7,4 a 7,8 e enviado resfriado ao laboratório para pesquisa de vírus da FA e EV pelo método ELISA *Sandwich* Indireto. Nos animais com lesões cicatrizadas foram colhidos cerca de 10 mL de sangue em tubos à vácuo sem anticoagulante, centrifugados para extração do soro e enviados resfriados ao laboratório para diagnóstico: sorológico de FA pelo método de ensaio imunoenzimático (ELISA) 3ABC/EITB e ELISA 3ABC (MET/LDDV/PL/029 V.1); e detecção de anticorpos para VSV por Neutralização viral (MET/LDDV/PL/023 V.2). A colheita pareada de sangue foi realizada 15 dias após a colheita inicial. Também foram coletadas amostras de líquido esôfago-faríngeo (LEF) de bovinos através de copo coletor PROBANG, armazenadas em meio tampão fosfato de igual volume e enviadas resfriadas para diagnóstico molecular por meio de qRT-PCR para FA. Para identificação do subtipo viral infectante, as amostras de epitélio positivas para o sorotipo Indiana passaram por subtipificação do vírus da EV através do método de Fixação de complemento 50% e passagem em culturas de células BHK. Todas as amostras foram testadas através de protocolos de diagnóstico preconizados no Manual de testes de diagnóstico e vacinas para animais terrestres (OIE, 2015).

No total de 46 propriedades notificadas, 690 animais foram examinados e 78 amostras foram coletadas. Todas as 32 propriedades consideradas casos prováveis de doença vesicular com colheita de amostras foram interditadas e monitoradas quinzenalmente até a divulgação dos resultados laboratoriais. Durante a investigação epidemiológica foi realizada vigilância ativa nas propriedades rurais localizadas dentro de um raio de 3km do caso provável. As propriedades confirmadas laboratorialmente como foco de EV permaneceram interditadas com restrições de trânsito, medidas de biossegurança e educação sanitária foram aplicadas e, em seguida, foram liberadas 21 dias após cura clínica do último animal sintomático.

## Resultados e Discussão.

Dentre as propriedades notificadas, após inspeção clínica e investigação epidemiológica, 30,4% (14/46) foram consideradas casos descartados de doença vesicular com diagnósticos como Pododermatite (07), Traumatismo (03) e sem sintomas (04). As demais propriedades apresentaram pelo menos 01 animal sintomático, sendo observados

sinais como claudicação, sialorreia, escore corporal baixo, temperatura retal de 39,9º C e presença de lesões no espaço interdigital, coroa dos cascos, úbere, tetas, lábios, língua e cavidade oral que variavam entre vesículas integras, lesões em processo de cicatrização com deposição de fibrina ou ulcerativas até vesículas já cicatrizadas. Das espécies susceptíveis presentes nas propriedades, apenas bovinos (66) e equídeos (12 equinos e 01 muar) demonstraram compatibilidade sintomática para EV. Ferris et al. (2012) e Arruda et al. (2015) relataram que bovinos e equinos são mais frequentemente afetados pela forma clínica da EV, com uma morbidade baixa porém mais elevada entre a população de equídeos, sendo tal situação também observada no presente estudo com ocorrência de taxa de infecção de 5,64% (25/443) entre os bovinos e 26,6% (8/30) entre os equídeos.

Nos casos onde as lesões estavam em estágio avançado de cicatrização ou clinicamente curadas, os animais foram submetidos a testes sorológicos pareados e, especificamente nos bovinos, a colheita de LEF foi realizada. Inicialmente, nenhum bovino apresentou reação imunológica ao vírus da FA pelo ELISA 3ABC e/ou 3ABC EITB (Tab. 1) e não houve detecção de fragmentos de RNA das amostras LEF ou epitélio processadas durante diagnóstico molecular para FA (Tab. 2).

Tabela 1. Resultado dos testes sorológicos para FA e EV.

Propriedade	Animal	Lanagro/MG						Lanagro/PA	
		Detecção de anticorpos para o vírus EV <sup>1</sup> por Neutralização viral						ELISA para FA <sup>2</sup>	
		Indiana I		Indiana II		Indiana III		3 ABC	3ABC/EITB
		AI <sup>3</sup>	AP <sup>4</sup>	AI	AP	AI	AP		
Acaraú 002	Bov <sup>5</sup> 133	R <sup>7</sup> (1,3)	R (1,3)	R (1,3)	R (1,3)	R (3,1)	R (3,7)	NR <sup>8</sup>	NO <sup>9</sup>
Amontada 001	Bov 015	R ( $\geq$ 3,11)	R ( $\geq$ 3,11)	R ( $\geq$ 3,4)	R ( $\geq$ 3,4)	R ( $\geq$ 3,4)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NO
Aracoiaba 003	Bov VG	R ( $\geq$ 3,11)	R (2,8)	R ( $\geq$ 3,41)	R (2,8)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
Aracoiaba 005	Bov 121	R (2,38)	R (1,3)	R (2,08)	R (1,9)	R (3,3)	R (3,0)	NR	NO
Caucaia 021	Equ <sup>6</sup> 102	R (2,8)	NR (<1,3)	R (3,11)	R (1,3)	R ( $\geq$ 3,41)	R (2,5)	NA <sup>10</sup>	NA
	Equ 103	R (1,48)	R (1,9)	R (1,3)	R (2,5)	R (1,6)	R ( $\geq$ 3,41)	NA	NA
	Equ 104	R ( $\geq$ 3,11)	R (1,9)	R (2,2)	R (1,9)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,41)	NA	NA
	Equ 105	R (2,8)	R (1,9)	R (2,38)	R (1,6)	R (3,28)	R ( $\geq$ 3,41)	NA	NA
Chaval 001	Bov 2034	R (2,38)	R ( $\geq$ 3,11)	R (2,5)	R (2,98)	R ( $\geq$ 3,41)	R (1,6)	NO	NR
Chaval 002	Bov 2450	R (2,68)	R (2,51)	R (3,28)	R (2,5)	R ( $\geq$ 3,41)	R (1,6)	NO	NR
Chaval 003	Bov 2426	R (1,9)	R (2,51)	R (2,2)	R (2,68)	R ( $\geq$ 3,41)	R (1,6)	NO	NR
Chaval 004	Bov 2428	R (3,11)	R (2,51)	R (2,68)	R (2,2)	R ( $\geq$ 3,41)	R (1,6)	NO	NR
Coreaú 003	Bov 2439	R (2,38)	R (1,6)	R (2,38)	R (2,2)	R ( $\geq$ 3,41)	R (3,1)	NR	NR
Ibaretama 1032	Bov 1032	R (2,38)	R (2,51)	R (2,2)	R (2,8)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,41)	NR	NR
Miraíma 002	Bov 001	R (1,3)	NR (<1,3)	R (1,78)	R (1,3)	R (3,28)	R (2,8)	NR	NR
	Bov 002	R (2,38)	R ( $\geq$ 3,11)	R (2,51)	R (3,1)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
	Bov 003	R ( $\geq$ 3,11)	R ( $\geq$ 3,11)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
Miraíma	Bov C01	R ( $\geq$ 4,0)	R ( $\geq$ 4,0)	R ( $\geq$ 4,0)	R ( $\geq$ 4,0)	R ( $\geq$ 3,9)	R ( $\geq$ 3,9)	NR	NR

003	Bov C02	R (2,2)	R (3,0)	R (1,9)	R (2,98)	R (3,0)	R (3,7)	NR	NR
M. Nova 007	Bov 094	R (1,78)	R (1,9)	R (2,68)	R (2,8)	R (3,3)	R (3,6)	NR	NR
M. Nova 009	Bov Gr	R (1,9)	R (2,98)	R (2,8)	R (3,11)	R (3,5)	R (3,8)	NR	NR
Ocara 001	Equ 001	R (2,68)	R (2,51)	R (2,98)	R (2,8)	R ( $\geq$ 2,2)	R ( $\geq$ 3,4)	NA	NA
Ocara 002	Bov 4725	R (3,0)	R (2,81)	R ( $\geq$ 2,2)	R (2,5)	R ( $\geq$ 2,2)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
Ocara 003	Bov 4706	R ( $\geq$ 3,11)	R (2,5)	R (2,38)	R (1,9)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,41)	NR	NR
	Bov 4707	R ( $\geq$ 2,2)	R (1,9)	R (2,68)	R (2,2)	R ( $\geq$ 3,41)	R (3,1)	NR	NR
Ocara 004	Bov 4722	R (1,9)	R (1,6)	R (2,38)	R (2,5)	R (3,6)	R (3,7)	NR	NR
Ocara 005	Bov 4709	R (2,5)	R (2,5)	R (3,1)	R (2,8)	R ( $\geq$ 3,4)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NO
	Bov 4710	NR (<1,3)	NR (<1,3)	R (1,3)	NR (<1,3)	R (2,2)	R (1,6)	NR	NO
	Bov 4711	R (1,6)	R (1,6)	R (2,2)	R (1,9)	R (3,1)	R (3,1)	NR	NO
	Bov 4712	R (1,6)	R (1,3)	NR (<1,3)	R (1,9)	R (2,5)	R (3,1)	NR	NO
	Muar 001	R (1,9)	R ( $\geq$ 3,11)	R (2,5)	R (3,1)	R ( $\geq$ 3,4)	R ( $\geq$ 3,4)	NA	NA
Ocara 006	Bov 4714	R (1,6)	R (1,9)	R (2,5)	R (2,5)	R (3,1)	R (3,6)	NR	NO
	Bov 4715	NR (<1,3)	R (1,3)	NR (<1,3)	R (1,6)	R (1,9)	R (1,6)	NR	NO
S.G. Amarante 002	Bov SGA 002	R (1,6)	R (1,9)	R (2,51)	R (2,5)	R (3,28)	R (3,1)	NR	NR
	Bov SGA 003	R (1,78)	NR (<1,3)	R (2,08)	R (1,6)	R ( $\geq$ 3,41)	R (2,5)	NR	NR
	Equ SGA 005	R (1,6)	R (1,3)	R (1,9)	R (1,3)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NA	NA
	Bov SGA 020	R (2,08)	R (1,6)	R (2,81)	R (2,2)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
	Bov SGA 021	R (1,78)	R (2,2)	R (1,78)	R (1,9)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
S.L. Curu 001	Equ SLC 001	R (2,81)	R (1,9)	R ( $\geq$ 3,41)	R (2,8)	R ( $\geq$ 2,2)	R ( $\geq$ 3,4)	NA	NA
	Equ SLC 002	R (2,51)	R (1,9)	R (2,2)	R (2,2)	R ( $\geq$ 2,2)	R ( $\geq$ 3,4)	NA	NA
	Bov SLC 005	R ( $\geq$ 3,11)	R ( $\geq$ 3,11)	R ( $\geq$ 2,2)	R (3,1)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
S.L. Curu 002	Bov SLC 020	R (2,38)	R (1,6)	R ( $\geq$ 2,2)	R (1,6)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
	Bov SLC 021	R (2,51)	R (2,2)	R ( $\geq$ 2,2)	R (2,2)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
	Bov SLC 022	R (2,51)	R (2,2)	R ( $\geq$ 2,2)	R (1,9)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
	Equ SLC 024	R (3,11)	R ( $\geq$ 3,11)	R ( $\geq$ 2,2)	R ( $\geq$ 3,4)	R ( $\geq$ 2,2)	R ( $\geq$ 3,4)	NA	NA
S.L. Curu 003	Bov SLC 031	R (2,9)	R (1,9)	R ( $\geq$ 2,2)	R (2,5)	R ( $\geq$ 3,41)	R (3,1)	NR	NR
	Equ SLC 033	R (2,6)	R (1,9)	R ( $\geq$ 2,2)	R ( $\geq$ 3,4)	R ( $\geq$ 2,2)	R ( $\geq$ 3,4)	NA	NA
	Equ SLC 034	R (2,9)	R (1,6)	R ( $\geq$ 2,2)	R (2,5)	R ( $\geq$ 2,2)	R ( $\geq$ 3,4)	NA	NA
	Bov SLC 040	R (1,3)	NR (<1,3)	R (1,48)	R (1,9)	R ( $\geq$ 3,41)	R (2,8)	NR	NR
	Bov SLC 041	R (1,78)	R (1,9)	R (2,38)	R (1,9)	R ( $\geq$ 3,41)	R (2,8)	NR	NR
	Bov SLC 042	R (2,68)	R (2,2)	R (3,11)	R (3,1)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
	Equ SLC 043	R (2,80)	R (1,3)	R (2,81)	NR (<1,3)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NA	NA
Sobral 009	Bov 2312	R (2,38)	R (1,9)	R (3,11)	R (2,2)	R ( $\geq$ 3,41)	R ( $\geq$ 3,4)	NR	NR
T. Norte 017	Bov AVFGS	R (2,5)	R (2,2)	R (2,8)	R (2,5)	R ( $\geq$ 3,4)	R (2,8)	NR	NO

<sup>1</sup> EV = Estomatite Vesicular, <sup>2</sup> FA = Febre Aftosa, <sup>3</sup> AI = Amostra inicial, <sup>4</sup> AP = Amostra pareada, <sup>5</sup> Bov = Bovino, <sup>6</sup> Equi = Equino, <sup>7</sup> R = Reagente, <sup>8</sup> NR = Não reagente, <sup>9</sup> NO = Não observado, <sup>10</sup> NA = Não se aplica.

Tabela 2. Detecção de RNA do vírus da FA e da EV.

Propriedade	Animal	RT-PCR em tempo real de LEF <sup>1</sup>	
		EV <sup>2</sup>	FA <sup>3</sup>
Acaraú 002	Bov <sup>4</sup> 133	NO <sup>5</sup>	ND <sup>6</sup>
Amontada 001	Bov 015	NO	ND
Aracoiaba 003	Bov VG	NO*	ND*
Aracoiaba 005	Bov 121	NO	ND

Chaval 001	Bov 2034	NO	ND
Chaval 002	Bov 2450	NO	ND
Chaval 003	Bov 2426	NO	ND
Chaval 004	Bov 2428	Indiana*	ND
Coreaú 003	Bov 2439	NO	ND
Ibaretama 1032	Bov 1032	NO	ND
Miraíma 002	Bov 001	NO	ND
	Bov 002	NO	ND
	Bov 003	NO	ND
Miraíma 003	Bov C01	NO	ND
	Bov C02	NO	ND
M. Nova 007	Bov 094	NO	ND
M. Nova 008	Bov Mi	Indiana*	ND*
M. Nova 009	Bov Gr	NO	ND
Ocara 002	Bov 4725	NO	ND
Ocara 003	Bov 4706	NO	ND
	Bov 4707	NO	ND
Ocara 004	Bov 4722	NO	ND
Ocara 005	Bov 4709	NO	ND
	Bov 4710	NO	ND
	Bov 4711	NO	ND
	Bov 4712	NO	ND
Ocara 006	Bov 4714	NO	ND
	Bov 4715	NO	ND
S.G. Amarante 002	Bov SGA 002	NO	ND
	Bov SGA 003	NO	ND
	Bov SGA 020	NO	ND
	Bov SGA 021	NO	ND
S.L. Curu 002	Bov SLC 020	NO	ND
	Bov SLC 021	NO	ND
	Bov SLC 022	NO	ND
S.L. Curu 003	Bov SLC 031	NO	ND
	Bov SLC 040	NO	ND
	Bov SLC 041	NO	ND
	Bov SLC 042	NO	ND
Sobral 009	Bov 2312	NO	ND
T. Norte 017	Bov AVFGS	NO	ND

<sup>1</sup>LEF = Líquido esôfago-faríngeo, <sup>2</sup>EV = Estomatite Vesicular, <sup>3</sup>FA = Febre Aftosa,

<sup>4</sup>NO = Não observado, <sup>5</sup>ND = Não detectado, \* = Amostra de epitélio

Quando as amostras de soro foram testadas para EV, observou-se que 19,5% (8/41) dos bovinos e 61,53% (8/13) dos equídeos coletados apresentaram soroconversão igual ou superior em quatro vezes quando comparadas às titulações da colheita inicial e da colheita pareada. Em ambas as espécies houve reatividade para todos os sorotipos. Nos bovinos, os

resultados demonstraram soroconversão para Indiana I (2), Indiana II (1), Indiana III (2), Indiana I e II (1) e Indiana II e III (2); e nos equídeos, soroconversão para Indiana III (3), Indiana I e II (1), Indiana II e III (3) e Indiana I, II e III (1) (Tab. 3).

Tabela 3. Cálculo de soroconversão para o vírus da EV.

Propriedade	Animal	Indiana I			Indiana II			Indiana III		
		AI <sup>1</sup>	AP <sup>2</sup>	SC <sup>3</sup>	AI	AP	SC	AI	AP	SC
Acaráu 002	Bov <sup>4</sup> 133	19,95	19,95	1	19,95	19,95	1	1258,92	5011,87	3,98
Amontada 001	Bov 015	5011,87	5011,87	1	10000	10000	1	6309,57	6309,57	1
Aracoiaba 003	Bov VG	1288,24	630,95	0,48	2570,39	630,95	0,24	2570,39	2511,88	0,97
Aracoiaba 005	Bov 121	239,88	19,95	0,08	120,22	79,43	0,66	1995,26	1000	0,5
Caucaia 021	Equ <sup>5</sup> 102	630,95	NR <sup>6</sup> (<1,3)	NA <sup>7</sup>	1288,24	19,95	0,01	2570,39	316,22	0,12
	Equ 103	30,19	79,43	2,63	19,95	316,22	15,84	39,81	2511,88	63,09
	Equ 104	1288,24	79,43	0,06	158,48	79,43	0,5	2570,39	2511,88	0,97
	Equ 105	630,95	79,43	0,12	239,88	39,81	0,16	1905,46	2511,88	1,31
Chaval 001	Bov 2034	239,88	1288,24	5,37	316,22	954,99	3,01	2570,39	11,48	0,004
Chaval 002	Bov 2450	478,63	323,59	0,67	1905,46	316,22	0,16	2570,39	39,81	0,01
Chaval 003	Bov 2426	79,43	323,59	4,07	158,48	478,63	3,01	2570,39	39,81	0,01
Chaval 004	Bov 2428	1288,24	323,59	0,25	478,63	158,48	0,33	2570,39	39,81	0,01
Coreáu 003	Bov 2439	239,88	39,81	0,16	239,88	158,48	0,66	2570,39	1258,92	0,48
Ibaretama 1032	Bov 1032	239,88	323,59	1,34	158,48	630,95	3,98	2570,39	2511,88	0,97
Miraíma 002	Bov 001	19,95	NR(<1,3)	NA	60,25	19,65	0,33	1905,46	630,95	0,33
	Bov 002	239,88	1288,24	5,37	323,59	1258,92	3,89	2570,39	2511,88	0,97
	Bov 003	1288,24	1288,24	1	2570,39	2511,88	0,97	2570,39	2511,88	0,97
Miraíma 003	Bov C01	10000	10000	1	10000	10000	1	7943,28	7943,28	1
	Bov C02	1258,92	158,48	0,12	954,99	79,43	0,08	5011,87	1000	0,19
M. Nova 007	Bov 094	60,25	79,43	1,31	478,63	630,95	1,31	1995,26	3981,07	1,99
M. Nova 009	Bov Gr	954,99	79,43	0,08	1288,24	630,95	0,48	6309,57	3162,27	0,5
Ocara 001	Equ 001	478,63	323,59	0,67	954,99	630,95	0,66	158,48	2511,88	15,84
Ocara 002	Bov 4725	1000	645,65	0,64	158,48	316,22	1,99	158,48	2511,88	15,84
Ocara 003	Bov 4706	1288,24	316,22	0,24	239,88	79,43	0,33	2570,39	2511,88	0,97
	Bov 4707	158,48	79,43	0,5	478,63	158,48	0,33	2570,39	1258,92	0,48
Ocara 004	Bov 4722	79,43	39,81	0,5	239,88	316,22	1,31	3981,07	5011,87	1,25
Ocara 005	Bov 4709	316,22	316,22	1	1258,92	630,95	0,5	2511,88	2511,88	1
	Bov 4710	NR(<1,3)	NR(<1,3)	NA	19,95	NR(<1,3)	NA	158,48	39,81	0,25
	Bov 4711	39,81	39,81	1	158,48	79,43	0,5	1258,92	1258,92	1
	Bov 4712	39,81	19,95	0,5	15,84	79,43	5,01	316,22	1258,92	3,98
	Muar 001	79,43	1288,24	16,2	316,22	1258,92	3,98	2511,88	2511,88	1
Ocara 006	Bov 4714	39,81	79,43	1,99	316,22	316,22	1	1258,92	3981,07	3,16
	Bov 4715	NR(<1,3)	19,95	NA	NR(<1,3)	39,81	NA	79,43	158,48	1,99
S.G. Amarante 002	Bov SGA 002	39,81	79,43	1,99	323,59	316,22	0,97	1905,46	1258,92	0,66
	Bov SGA 003	60,25	NR(<1,3)	NA	120,22	39,81	0,33	2570,39	316,22	0,12
	Equ SGA 005	39,81	19,95	0,5	79,43	19,95	0,25	2570,39	2511,88	0,97

	Bov SGA 020	120,22	39,81	0,33	645,65	158,48	0,24	2570,39	2511,88	0,97
	Bov SGA 021	60,25	158,48	2,63	60,25	79,43	1,31	2570,39	2511,88	0,97
S.L. Curu 001	Equ SLC 001	645,65	79,43	0,12	2570,39	158,48	0,06	158,48	2511,88	15,84
	Equ SLC 002	323,59	1288,24	3,98	158,48	1258,92	7,94	158,48	2511,88	15,84
S.L. Curu 002	Bov SLC 005	1288,24	79,43	0,06	158,48	630,95	3,98	158,48	1258,92	7,94
	Bov SLC 020	239,88	39,81	0,16	158,48	39,81	0,25	2570,39	2511,88	0,97
S.L. Curu 003	Bov SLC 021	323,59	158,48	0,48	158,48	158,48	1	2570,39	2511,88	0,97
	Bov SLC 022	323,59	158,48	0,48	158,48	79,43	0,5	2570,39	2511,88	0,97
	Equ SLC 024	1288,24	1288,24	1	158,48	2511,88	15,84	158,48	2511,88	15,84
	Bov SLC 031	794,32	79,43	0,1	158,48	316,22	1,99	2570,39	1258,92	0,48
Sobral 009	Equ SLC 033	398,1	79,43	0,19	158,48	2511,88	15,84	158,48	2511,88	15,84
	Equ SLC 034	794,32	39,81	0,05	158,48	316,22	1,99	158,48	2511,88	15,84
	Bov SLC 040	19,45	NR (<1,3)	NA	30,19	79,43	2,63	2570,39	630,95	0,24
	Bov SLC 041	60,25	79,43	1,31	239,88	79,43	0,33	2570,39	630,95	0,24
	Bov SLC 042	478,63	158,48	0,33	1288,24	1258,92	0,97	2570,39	2511,88	0,97
T. Norte 017	Equ SLC 043	630,95	19,95	0,03	645,65	NR (<1,3)	NA	2570,39	2511,88	0,97
	Bov 2312	239,88	79,43	0,33	1288,24	158,48	0,12	2570,39	2511,88	0,97
	Bov AVFGS	316,22	158,48	0,5	630,95	316,22	0,5	2511,88	630,95	0,25

<sup>1</sup> AI = Amostra inicial, <sup>2</sup> AP = Amostra pareada, <sup>3</sup> SC = Soroconversão, <sup>4</sup> Bov = Bovino, <sup>5</sup> Equi = Equino, <sup>6</sup> NR = Não reagente.

<sup>7</sup> NA = não se aplica

O presente estudo corrobora com os achados por De Stefano et al. (2003) que relataram a soropositividade para Indiana I em 2,5% (28/1099) de rebanho bovino testado para EV em São Paulo, entretanto, sem nenhum animal clinicamente sintomático para doença. Arruda et al. (2015) também demonstraram animais com titulações para Indiana I e II, porém a sorconversão nesse caso esteve restrita apenas a espécie equina. O Estado do Ceará é considerado área endêmica para EV com presença reiterada da enfermidade. Neste caso, é comum encontrar animais reagentes aos testes sorológicos com anticorpos neutralizantes persistentes. Em regiões endêmicas, o padrão de resposta sorológica para a doença apresenta um comportamento muito variável, dificultando a interpretação dos testes utilizados, portanto, deve-se levar em consideração a ocorrência de reação cruzada entre os diferentes sorotipos da EV. Além disso, os resultados positivos para subtipo Indiana I, exótico no país, não são suficientes para declarar foco, porém, serve de alerta para colheita de material para realização de isolamento viral (BRASIL, 2012). Lopez-Inzaurrealde (1997) analisando os resultados de provas de diagnóstico realizadas pelo Centro Pan-Americano de Febre Aftosa (PANAFTOSA) com amostras de soro oriundas do Estado do Ceará entre o período de 1984 a 1996, relatou a recorrente infecção de bovinos pelo sorotipo Indiana III. O presente estudo demonstrou que após um lapso temporal de 17 anos sem registro o vírus continua circulante no Estado, desta vez sendo detectada reatividade também em equídeos.

Para pesquisa de vírus da FA e EV, apenas amostras de epitélio de bovinos foram submetidas ao teste de tipificação viral por ELISA *Sandwich* Indireto com passagem em célula BHK. Os resultados demonstraram que 62,5% (15/24) tiveram resultado positivo com média de Densidade Óptica (DO) maior que 0,300 para o sorotipo Indiana. Todos os sorotipo de Aphtovírus que ocorrem do Brasil (A, O, C) e o Vesiculovírus New Jersey (NJ) testados foram negativos (Tab. 4). Em 2 bovinos (Bov 2428 e Bov Mi) a detecção do sorotipo Indiana foi realizada através de diagnóstico molecular por qRT-PCR de epitélio (Tab. 2).

Tabela 4. Pesquisa de vírus da FA e EV a partir de epitélio bovino.

Propriedade	Animal	Tipificação do vírus da FA e EV - ELISA Sandwich Indireto				
		FA <sup>1</sup>		EV <sup>2</sup>		
		O <sup>3</sup>	A <sup>4</sup>	C <sup>5</sup>	NJ <sup>6</sup>	I <sup>7</sup>
Aracoiaba 004	Bov <sup>8</sup> T	N <sup>9</sup>	N	N	N	0,939
	Bov GB	N	N	N	N	0,939
Coreaú 002	Bov 2435	N	N	N	N	1,727
Ibicuitinga 001	Bov PBFGF 1	N	N	N	N	1,299
M. Nova 008	Bov Am	N	N	N	N	1,14
	Bov Ba	N	N	N	N	1,14
M. Nova 009	Bov Gr	N	N	N	N	N
Ocara 001	Bov 4718	N	N	N	N	1,095
Ocara 003	Bov 4708	N	N	N	N	0,878
S.G. Amarante 002	Bov SGA 001	N	N	N	N	0,783
	Bov SGA 002	N	N	N	N	N
	Bov SGA 003	N	N	N	N	N
	Bov SGA 004	N	N	N	N	N
	Bov SGA 020	N	N	N	N	N
S.L. Curu 001	Bov SLC 005	N	N	N	N	N
	Bov SLC 006	N	N	N	N	1,271
S.L. Curu 002	Bov SLC 020	N	N	N	N	N
	Bov SLC 021	N	N	N	N	N
	Bov SLC 022	N	N	N	N	N
S.L. Curu 003	Bov SLC 030	N	N	N	N	1,282
	Bov SLC 032	N	N	N	N	1,282
Sobral 008	Bov 2316	N	N	N	N	1,065
	Bov 2318	N	N	N	N	1,065
	Bov 2325	N	N	N	N	1,065

<sup>1</sup>FA = Febre Aftosa, <sup>2</sup>EV = Estomatite Vesicular, <sup>3</sup>O = Sorotipo O, <sup>4</sup>A = Sorotipo A,  
<sup>5</sup>C = Sorotipo C, <sup>6</sup>NJ = New Jersey, <sup>7</sup>I = Indiana, <sup>8</sup>Bov = Bovino, <sup>9</sup>N = Negativo

O percentual de positividade dos resultados quando a colheita do epitélio foi realizada demonstra a importância na rapidez da notificação dos casos suspeitos e do atendimento à essas notificações por parte do SVO possibilitando a identificação de animais com vesículas

integras ou recém rompidas, essencial para o diagnóstico confirmatório da EV através do isolamento viral. A prova sorológica além de ter baixa sensibilidade pode levar a interpretações equivocadas. Os títulos de anticorpos aumentam progressivamente até atingir níveis máximos, se mantém dependendo do agente e baixam gradativamente até níveis basais, portanto, a fase do processo infeccioso em que foi realizada a colheita das amostras deve ser considerada na interpretação dos resultados sorológicos (BRASIL, 2012).

Por fim, 11 das 15 amostras de epitélio bovino positivas para sorotipo Indiana passaram pelo processo de subtipificação viral através do método diagnóstico de Fixação de Complemento 50% com passagem em célula BHK para identificação do subtipo infectante. Todas as amostras confirmaram o Indiana III como o agente causador da infecção (Tab. 05).

Tabela 5. Subtipificação do vírus da Estomatite Vesicular a partir de epitélio

Propriedade	Animal	Fixação de complemento 50%	
		Subtipo viral	
Aracoiaiba 004	Bov <sup>1</sup> T	Indiana III	
	Bov GB		Indiana III
Coreaú 002	Bov 2435	Indiana III	
Ibicuitinga 001	Bov PBFGF 1	Indiana III	
M. Nova 008	Bov Am	Indiana III	
	Bov Ba		Indiana III
Ocara 001	Bov 4718	Indiana III	
Ocara 003	Bov 4708	Indiana III	
S.L. Curu 001	Bov SLC 006	Indiana III	
S.L. Curu 003	Bov SLC 030	Indiana III	
	Bov SLC 032		Indiana III

<sup>1</sup> Bov = Bovino

O sorotipo Indiana III vem sendo detectado com frequência nos estados do Nordeste nos últimos anos comprovando sua característica endêmica na região. O agente foi isolado de epitélio de língua de bovinos em 2010 na Paraíba (CLEMENTINO et al., 2014) e em 2013 no Maranhão (ARRUDA et al., 2015). Cargnelutti et al. (2014) detectaram também em 2013 a presença do VSAV em amostras de líquido vesicular e epitélio oral de equino e bovino nos estados do Rio Grande do Norte e na Paraíba. O presente estudo corrobora com os achados anteriores e contribui para a melhor compreensão dos estudos epidemiológicos da EV na região.

## Conclusão.

A detecção do sorotipo Indiana III a partir dos casos suspeitos de doença vesicular notificados ao SVO demonstrou a eficiência do sistema de vigilância na confirmação da emergência sanitária. Estes foram os primeiros casos reportados oficialmente pelo SVO do Estado do Ceará como foco de EV com diagnóstico laboratorial confirmatório para VSAV. A presença de animais sintomáticos somados aos achados sorológicos e detecção de VSAV confirmam o caráter endêmico do Estado para uma das principais doenças de diagnóstico diferencial da FA. Tais achados contribuem para a ampliação dos conhecimentos sobre a situação epidemiológica da EV no Ceará e demonstram a necessidade de se manter vigilância contínua para a doença e desenvolver mais pesquisas sobre os mecanismos de manutenção e disseminação desse agente no ambiente.

## Agradecimentos

Agradecemos a todos os servidores públicos da ADAGRI que colaboraram com as ações de campo e colheita de amostras; ao Laboratórios Nacional Agropecuário (LANAGRO) de Minas Gerais e do Pará, Brasil; à toda equipe de gestão da ADAGRI que autorizou a realização da pesquisa.

## Referências.

- ARRUDA, R. C. N., et al. Investigação epidemiológica de Estomatite vesicular por achados clínicos em bovinos e equinos no Estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.35(5), p. 391-395, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano de ação para Febre Aftosa – Volume I**. Brasília-DF. MAPA/SDA/DSA. 96p, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Definição de caso de Estomatite Vesicular e Fluxo de doença Vesiculares**. Circular nº 155 de 31.08.12. DSA/MAPA, Brasília, Distrito Federal. 2012.
- CARGNELUTTI, J. F., et al. Outbreaks of Vesicular stomatitis Alagoas virus in horses and cattle in northeastern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.26(6), p.788–794, 2014.
- CEARÁ. Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará - IPECE. **Anuário estatístico do Ceará. Agropecuária e extração vegetal - Rebanhos. 2013**. Disponível em: [http://www2.ipece.ce.gov.br/publicacoes/anuario/anuario2013/aspectosEconomicos/agropecuaria\\_extracao/rebanhos.htm](http://www2.ipece.ce.gov.br/publicacoes/anuario/anuario2013/aspectosEconomicos/agropecuaria_extracao/rebanhos.htm). Acesso em: 20 jan. 2015.

CLEMENTINO, I. J., et al. Primeiro diagnóstico de estomatite vesicular no Estado da Paraíba, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, 35(5), p.2601-2606, 2014.

DE STEFANO, E., et al. Pesquisa de anticorpos contra o vírus da Estomatite Vesicular em bovinos de corte criados na região de Araçatuba, Estado de São Paulo, Brasil em 2000. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40(1), p. 29-35, 2003.

FERNANDEZ, A. A.; SÖNDAHL, M. S. Caracterizacion antigenica e inmunogenica de varias cepas del sorotipo Indiana de estomatitis vesicular aisladas en Brasil. **Boletin del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa**, v.51, p.23-26, 1985.

FERRIS N. P., et al. Development and laboratory evaluation of two lateral flow devices for the detection of vesicular stomatitis virus in clinical samples. **Journal of Virological Methods**, v.180, p. 96-100, 2012.

GOODGER, W. J., et al. Economic impact of an epizootic of bovine vesicular stomatitis in California. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.186(4), p. 370–373. 1985.

LAGUARDIA-NASCIMENTO, M., et al. Detection of multiple viral infections in cattle and buffalo with suspected vesicular disease in Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.28(4), p. 377–381. 2016.

LOPEZ-INZAURRALDE, A. **Distribuição especial e temporal da Estomatite Vesicular no Brasil, 1964-1996**. 1997. 68f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Disponível em: [http://vet.ufmg.br/ensino\\_posgraduacao/egresso/3\\_20100115105010\\_1050](http://vet.ufmg.br/ensino_posgraduacao/egresso/3_20100115105010_1050). Acesso em: 06 jan. 2017.

LUNKES, V. L., et al. Antibodies against vesicular stomatitis virus in horses from southern, midwestern and northeastern Brazilian States. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.46(8), p. 1424-1429, 2016.

OIE. World Organisation For Animal Health. Vesicular stomatitis. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 2.1.23.** Paris. 2015. Disponível em: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.01.23\\_VESICULAR\\_STOMATITIS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.23_VESICULAR_STOMATITIS.pdf) Acesso em: 10 ago. 2017.

## **5 ARTIGO CIENTÍFICO 2 – Submetido ao periódico Preventive Veterinary Medicine**

Identification of risk factors for the occurrence of Vesicular Stomatitis by epidemiological investigation of notified cases to Official Veterinary Service.

Célio Souza da Rocha<sup>a,b</sup>, Ilanna Vanessa Pristo de Medeiros Oliveira<sup>a</sup>, Gabriela Hemylin Ferreira Moura<sup>a</sup>, José Artur Brilhante Bezerra<sup>a</sup>, Annira Aquino Cortez<sup>b</sup>, Igor Gurgel Ibiapina<sup>b</sup>, José Nilton de Almeida Junior<sup>b</sup>, Cecilia Irene Pérez Calabuig<sup>a</sup>, João Marcelo Azevedo de Paula Antunes<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado, Departamento de Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – Av. Francisco Mota, 572 - Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil, CEP: 59625-900. <sup>b</sup> Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará, Av. Bezerra de Menezes, 1820 - São Gerardo, Fortaleza – CE, Brasil, CEP: 60325-002.

\*Corresponding author: joao.antunes@ufersa.edu.br

### **Abstract**

Although Vesicular Stomatitis (VS) is no longer among the mandatory reporting diseases classified by the World Organization for Animal Health (OIE), this disease continues to play an important role in the Brazilian National Program for the Prevention and Eradication of Foot-and-Mouth Disease, it requires immediate notification of any suspected cases. Accordingly, the objective of the present study was to identify possible risk factors for the occurrence of VS in the State of Ceará, Brazil. During the period from 2013 to 2015, the State Official Veterinary Service received 51 notifications of suspected cases of vesicular syndrome. For the study, two different scenarios were evaluated. In the first, the analysed variables were employed in all 51 suspected cases, with 24 foci and 27 non-foci. The results demonstrated that: breeding of dual aptitude herds ( $N = 51$ ,  $df = 3$ ,  $\chi^2 = 6.0$ ,  $p \leq 0.05$ ), shared use of utensils or equipment with others ( $N = 51$ ,  $df = 1$ ;  $\chi^2 = 5.9$ ,  $p \leq 0.05$ ), use of neighboring labor force ( $N = 51$ ,  $df = 1$ ,  $\chi^2 = 8.8$ ,  $p \leq 0.05$ ), participation of liable animals in events with agglomeration ( $N = 51$ ,  $df = 1$ ,  $\chi^2 = 4.8$ ,  $p \leq 0.05$ ) and properties with geographic proximity to risk areas ( $N = 51$ ,  $df = 1$ ,  $\chi^2 = 5.8$ ,  $p \leq 0.05$ ) were factors which demonstrated a greater probability for occurrence of foci of VS. However, when we analyzed only the 33 probable cases with confirmatory laboratory diagnosis, of which 20 were foci and 13 were

non-foci, no variable showed a significant difference between the proportion of foci and non-foci. This result may have been influenced by the reduction of the cases analysed. These results suggest that the risk factors used in most of the research for cases of suspected SV should not be those used for the surveillance in diagnosed cases of the disease. Thus, it is necessary to strengthen the surveillance system so that a greater number of probable cases are analyzed and corroborate with the findings of this study.

Keywords: Vesiculovirus, Health protection, Epidemiological research, Risk factors.

## 1. Introduction

Vesicular stomatitis (VS) is an infectious disease which has an important role in animal health programs, specifically in the Brazilian National Program for the Prevention and Eradication of Foot-and-Mouth Disease (PNEFA), it is part of the group of diseases classified as differential laboratory diagnosis for Foot and Mouth Disease (FMD), being the only one that occurs in Brazil since the others are exotic, presenting indistinguishable clinical symptomatology that lead to the notification of suspected cases of vesicular disease and the use of extensive sanitary measures to control and eradicate the foci by the Official Veterinary Services (OVS) (BRASIL, 2009).

The infectious agent of VS is a simple-stranded RNA virus of the genus *Vesiculovirus* (family Rhabdoviridae), capable of infecting many species of mammals (LETCHWORTH et al., 1999; MACHADO et al., 2003). The socioeconomic importance of VS is related to its ability to infect humans and affect herd productivity due to vesicular lesions and erosions in the mouth, coronary bands and udders which lead to decreased milk production, causing secondary mastitis and premature slaughter (GOODGER et al., 1985).

According to Mason (1978) a typical characteristic of VS is its irregular distribution. Frequently, no cases are observed in properties adjacent to those affected. Since there are no methods to control vesiculovirus in human or livestock populations, control methods should be based on interruption of transmission. Geographic localization of endemic foci of VS and identification of risk factors in animal-environmental management associated with seroconversion can provide information on how to reduce exposure (REMMERS et al., 2000). Recent studies indicate that the virus infection is recurrent in Brazilian territory, with cases being limited to one or more regions and affecting domestic or wild animals (CARGNELUTTI et al., 2014).

Thus, the present study aimed to investigate the presence of *Vesiculovirus* and its epidemiological associations to identify possible risk factors for the occurrence of the disease.

## 2. Material and Methods.

### 2.1. Declaration of ethics

The study was carried out according to the Committee of Ethics in Animal Use (CEUA) - UFERSA (nº 23091.003999 / 2016-3). All procedures followed the guidelines established by the Plan of Action for Foot-and-Mouth Disease - Volume I (BRASIL, 2009). Those responsible for the farms and herds were informed of the objectives of the investigation and signed all terms for collecting data and samples. The data were compiled and analyzed after official authorization through administrative process VIPROC No 8108013/2013 – ADAGRI.

### 2.2 Study area

The study was carried out between May 2013 and June 2015 in the State of Ceará, Northeastern Brazil. During this period, notifications of suspected cases of vesicular syndrome were registered at the Agricultural Defense Agency of the State of Ceará (ADAGRI) in 51 rural properties in 30 municipalities throughout the State. All properties were georeferenced and recorded in the degree, minute and second format using GPS devices properly configured using a DATUM SAD69 frame (Figure 01).

### 2.3. Study design.

The unit of analysis of the research was the rural property. The response variable was the confirmation or non-confirmation of the focus of VS by clinical-epidemiological, serological, viral isolation or molecular diagnosis of the animals with suggestive clinical suspicion for vesicular syndrome. For this, two distinct scenarios were evaluated: all suspected cases of vesicular disease and only probable cases of vesicular disease (BRASIL, 2009). Out of a herd of 2501 susceptible animals, bovine, equine (equine, asinine and mule) sheep, goats and pigs were collected only after clinical evaluation of the affected animals and confirmation of suspected cases. In total, 81 animals had suggestive clinical symptoms for vesicular disease and had samples collected for laboratory analysis. In the properties where there was a focus of VS the animal traffic was restrained, fortnightly biosafety measures and

the access to these properties were only granted 21 days after the last sick animal was clinically healed.

#### *2.4. Data collection*

In the last few years, the Veterinarian Officers of ADAGRI have been going through training to report suspected vesicular disease properly. Epidemiological investigations were carried out considering the characteristics inherent to the notified rural properties, the herds and the particularities of the notification processes involved. The information used in this study was extracted and adapted from the Disease Investigation Forms (BRASIL, 2013) completed by the OVS of the State of Ceará during reports of suspected cases of vesicular syndrome.

#### *2.5. Sample collection*

The choice of material to be collected depended on the age and degree of preservation of the apparent lesions. In animals with intact or recently ruptured vesicles, approximately 1 to 3 days old, about 2g of vesicular epithelial tissue fragments were collected and stored in sterile test tubes with a Valleé liquid at a pH of 7.4 to 7.8 and sent cooled to the laboratory for viral isolation. Those animals with lesions in the process of initial or completed healing, above 7 days of age, were collected from blood serum to search antibodies. About 10ml of blood were collected in vacuum tubes without anticoagulant and centrifuged for extraction of the serum and sent to the laboratory. During the paired collection, samples of esophagus-pharyngeal fluid were collected through a PROBANG collecting cup, stored in phosphate buffer medium of equal volume and sent cooled for molecular diagnosis (PANAFTOSA, 2010).

#### *2.6. Laboratory Diagnosis*

The samples were analysed in the National Agricultural and Livestock Laboratory - LANAGRO in Pedro Leopoldo, Minas Gerais (VS) and Belém, Pará (FMD). All samples were tested using diagnostic protocols established by the Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (OIE, 2015).

#### *2.7. Statistical evaluations*

The explanatory variables to identify possible risk factors for the occurrence of vesicular stomatitis involved the characteristics of the properties and herds, and the information provided by the responsible ones during an epidemiological questionnaire applied. The procedures for notifying vesicular syndromes were also evaluated. Contingency tables were carried out between the categorical variables and the value of the  $\chi^2$  test was verified to identify possible differences in the proportions of rural properties, focus and non-focus among the different explanatory variables. For this purpose, the statistical software IBM SPSS Statistics V22.0 was used. During all analysis, significance was considered when  $p \leq 0.05$ .

### 3. Results.

#### *3.1. All the suspected cases of vesicular syndrome*

We considered all 51 rural properties reported as suspected cases of vesicular syndrome in ADAGRI indicating the possibility of one or more animals with suggestive clinical symptoms for infectious vesicular disease. After evaluation of the clinical and epidemiological profile, 18 properties were discarded because the symptoms were incompatible, and there was no need to collect samples for laboratory tests. In these cases, OVS presented as final diagnosis: Pododermatitis (61.2%), Traumatism (5.5%), Intoxication (5.5%) and without symptoms (27.8%) ending the service (table 01). Other 09 properties had animals with laboratory diagnosis negative for Vesicular Stomatitis. Therefore, we considered a total of 27 rural properties as non-focus ones.

As a focus of Vesicular Stomatitis, the properties that showed animals with seroconversion equal to or greater than four times by the method of viral Neutralization in paired samples, isolation of Vesiculovirus in epithelial samples through the Indirect sandwich ELISA test or detection of viral RNA by qRT-PCR with samples of epithelium or esophagus-pharyngeal fluid. The rural property with a non-reactive serological result that was part of an epidemiological unit with geographical contiguity shared by a group of animals of different properties, where at least one confirmed case of vesicular stomatitis was detected, was also considered as a focus (BRASIL, 2012), summing up 24 rural properties. In this scenario, the only variable which presented significant difference between the proportion of rural farms focus and non-focus, considering the inherent characteristics of the properties and how they promote the raising of their herds, was the variable: type of raising. Sheep breeding herds showed only 20% of foci, whereas in herd-rearing properties with meat

and milk production, there were 60% of VS foci ( $N = 51$ ;  $df = 3$ ;  $\chi^2 = 6.0$ ;  $p \leq 0.05$ ). Dairy or sport herds did not show significant difference between focus and non-focus in relation to other types of breeding (Table 02).

The results of the epidemiological questionnaire applied to the properties showed that farms which use facilities or equipment of neighbours or vice versa presented 73.3% of outbreaks and those that do not use showed only 36.1% of focus ( $N = 51$ ;  $df = 1$ ;  $\chi^2 = 5.9$ ;  $p \leq 0.05$ ). When the workforce of neighbours or vice versa is used on the farm, the outbreaks represent 76.47% of the properties they use, however, in farms that do not use only 32.35% were considered foci ( $N = 51$ ,  $df = 1$ ;  $\chi^2 = 8.8$ ;  $p \leq 0.05$ ). In rural properties where animals participated in events with agglomerations of susceptible species, 100% were considered foci, while in the properties where the animals did not participate in these events, only 42.55% represented focus ( $N = 51$ ,  $df = 1$ ,  $\chi^2 = 4.8$ ;  $p \leq 0.05$ ). Finally, the properties located close to areas of potential risk for vesicular syndromes such as motorways, dumps, airports, cold stores, dairy, among others presented 73.33% of foci, whereas properties without this characteristic presented only 36.11% of vesicular stomatitis foci ( $N = 51$ ;  $df = 1$ ;  $\chi^2 = 5.8$ ;  $p \leq 0.05$ ). The other variables analysed in the questionnaire did not present a significant difference (table 03).

During the evaluation of the procedures for notifying vesicular syndromes that may influence the quality of the results and favour the OVS to contain and control a focus of vesicular stomatitis, explanatory variables were analysed among the suspected cases (table 04). Regarding the origin of the notification, there was a significant difference between the notifications made during active monitoring by the OVS compared to the notifications made by third parties or owners where 87.5% of the cases reported by the OVS were considered focus and in the others only 31.25% and 44.44%, respectively ( $N = 51$ ,  $df = 2$ ,  $\chi^2 = 6.9$ ,  $p \leq 0.05$ ). When the reason for the initial investigation of the properties reported as a suspected case was the presence of animals with suggestive clinical symptomatology, the outbreaks represented 39.53%, while 100% of the properties reported as suspected due to a possible epidemiological link of geographic proximity within a 3km radius, pasture sharing and animals that move freely between neighboring properties were confirmed as the focus of EV ( $N = 51$ ;  $df = 2$ ;  $\chi^2 = 9.7$ ;  $p \leq 0.05$ ).

### *3.2. Only probable cases of vesicular syndrome.*

After confirmation by the official veterinarians that the animals presented clinical symptoms compatible with infectious vesicular disease, 33 reported rural properties were considered having probable cases and they were submitted to immediate biosafety measures and samples were taken for laboratory confirmatory diagnosis. In this case, the classification of focus or non-focus for the study is based only on the result of the laboratory diagnosis used in the samples collected from animals with suggestive symptomatology, not considering the formation of epidemiological units as previously. Therefore, we will have 20 foci and 13 non-foci. In this scenario, no explanatory variable presented a significant difference between the proportion of foci and non-foci in relation to characteristics of the properties involved. Regarding the epidemiological questionnaire, there were also no satisfactory results that could determine the existence of specific risk factors for the occurrence of VS, however, the participation of the animals in events with agglomeration and the proximity of the property to the risk areas for VS presented a marginally significant difference between foci and non-foci with  $0.05 < p < 0.10$ . The other variables were also not significantly different. For the evaluation of procedures for reporting suspected vesicular syndromes, all variables presented  $p > 0.05$ , with no significant difference between them.

## Discussion

In the analysis of all the suspected cases of vesicular disease, the group of properties classified as non-focus was due to the junction of the disregarded cases, by clinical and epidemiological diagnosis carried out by the Veterinary State Agricultural and Veterinary Medical Examiners, with the probable cases which were negative for VS, without any links or epidemiological units. The capacity of the system, mainly, to dispose of sanitary events reported as suspected cases depends, among others, on personnel qualified to produce a final diagnosis (PANAFTOSA, 2003). Thus, no samples were collected at the non-foci properties by clinical / epidemiological diagnosis, the investigation was concluded with the description of a final diagnosis and the information was sent to the Continental Epidemiological Surveillance System (SIVCONT). In the farms considered probable cases of vesicular disease, the serological analyzes of bovines and equids showed that in 12 properties 16 animals presented seroconversion to Indian Vesiculovirus (VSIV) by viral neutralization. In another 12 properties with collected epithelial samples it was possible to classify the VSIV in 15 bovines by indirect Sandwich ELISA and in 02 bovines by qRT-PCR. Finally, viral subtyping was performed by 50% complement fixation with BHK cell passage identifying the

presence of the Indiana III serotype (Alagoas / VSAV) in 11 bovine epithelial samples present in 8 focus rural farms (Table 01). These findings corroborate with Lopez-Inzaurrealde (1997), who reported the recurrence of bovine infection by the Indiana III serotype between 1984 and 1996, considering the region endemic to the disease. This viral serotype has also been isolated in recent studies carried out in other Northeastern states of Brazil such as Maranhão (ARRUDA et al., 2015), Paraíba and Rio Grande do Norte (CLEMENTINO et al., 2014; CARGNELUTTI et al., 2014).

The evaluation of the productive aspects of the farms and herds (Table 02) revealed that in farms with mixed management, meat and milk, with some degree of intensive management, the percentage of outbreaks was significantly higher than in the beef cattle herds without confinement ( $N = 51$ ;  $df = 3$ ;  $\chi^2 = 6.0$ ;  $p \leq 0.05$ ). However, there was no significant difference between the proportion of foci and non-foci between mixed-breeding and milk-producing properties, with a much higher degree of human participation and intensive management. Possible characteristics that would facilitate less sanitary control and less traceability of the herds, such as collective, extensive and subsistence crops, were also evaluated but were not more likely to occur foci when compared to opposite situations of higher control, theoretically. The intercropping of susceptible species did not prove to be a preponderant factor for the occurrence of VS, but in these properties, only cattle, horses and mule were infected by the vesiculovirus (Table 01). According to Ferris et al. (2012) among the mammals that are susceptible to infection, cattle and horses are those in which VS is diagnosed more frequently, with 5 to 10% of animals clinically affected. The present study showed that 5,19% (25/481) of cattle were infected while 25% (8/32) of the equine herd tested positive for EV.

Based on the questioning about the routine management of the notified properties, it was observed that the utensils, equipment ( $N=51$ ;  $df=1$ ;  $\chi^2=5,9$ ;  $p \leq 0,05$ ) and even the employees of the farms ( $N = 51$ ,  $df = 1$ ;  $\chi^2 = 8.8$ ;  $p \leq 0.05$ ) may have role of fomites with probability of carrying the infectious agent to the susceptible herds affected since the percentage of focus on properties sharing the use of these instruments or labor was significantly greater than the percentage of focus on properties they do not share (Table 03). The participation of animals in agricultural events with agglomeration was also considered a risk factor for the occurrence of VS since all the properties which presented this specific characteristic were considered focus whereas less than half of the properties that do not transport their animals to events had confirmed cases of EV ( $N = 51$ ,  $df = 1$ ,  $\chi^2 = 4,8$ ;  $p \leq 0.05$ ).

Gonçalves et al. (2016) affirm that agricultural events bring together animals of diverse origins, which represents a risk of transmission and dissemination of diseases. The convergence of individuals to the same environment makes them susceptible to interaction within the epidemiological dynamics of diseases (DANON et al., 2011; SANTOS; HEIN, 2014). Finally, the probability of contamination by the infectious agent of the VS was higher in the properties located close to the areas considered to have a greater risk for viral dissemination of vesicular diseases ( $N = 51$ ;  $df = 1$ ;  $\chi^2 = 5.8$ ;  $p \leq 0.05$ ), such as garbage dumps, slaughterhouses, dairy, contiguous to high animal flow roads or regions, among others (BRASIL, 2007).

The study also proposed an evaluation of the reporting procedures for suspicious cases of VS in relation to the performance by the community and the OVS in detecting and acting on suspicion or occurrence of vesicular syndrome since its notification is mandatory for any citizen, as well as for any professional working in the area of diagnosis, teaching or research in animal health (BRASIL, 2013). The results showed that the reports of suspicions carried out through active monitoring by the OVS had a high percentage of confirmation of the cases (87.5%) ( $N = 51$ ,  $df = 2$ ,  $\chi^2 = 6.9$ ,  $p \leq 0.05$ ) and when the investigations were motivated by the existence of epidemiological links, 100% of the cases were considered foci of VS ( $N = 51$ ;  $df = 2$ ;  $\chi^2 = 9.7$ ;  $p \leq 0.05$ ). This demonstrates the capacity of the monitoring service and the quality of veterinary medical professionals of the State of Ceará during the epidemiological investigations. For the Pan American Foot-and-Mouth Disease Center (2013), the quality of veterinary care services is essential to provide credibility for the health status of countries and to ensure the sanitary status of the disease. On the other hand, it is worrying to realise that only 31.2% and 44.4% of notifications made by owners and third parties, respectively, were confirmed as the focus of VS (Table 04). The low percentage of confirmations can be reflected in the lack of knowledge about the disease by the community and the difficulty of differentiating the types of lesions of the affected animals, therefore it is necessary to intensify the health education actions by the OVS to train the population in order to refine future notifications and avoid false reports.

In Central and South America, VS occurs throughout the year, although there is an increase in the number of outbreaks from March to June (BRASIL, 2012). Arruda et al. (2015), after an epidemiological investigation of VS in cattle and horses in the State of Maranhão-Brazil, the disease was diagnosed in December, a period characterized by the onset of the rainy season, and consequently with a high proliferation of hematophagous insects.

According to Riet-Correa et al. (2007) from the epidemiological point of view, it is suspected to be vector-borne disease based on: seasonal incidence, ecological limitation, speed and form of dissemination; mosquito replication with transovarial transmission (demonstrated in the Indiana virus); and virus persistence in jungle regions, independently of the infection cycle of domestic animals. In the present study, the seasonality variable was not evaluated because epidemic outbreaks occurred throughout the year 2013 without differences between dry and rainy season with possible influence on the vector insect population.

When we evaluated a second scenario with only 33 probable cases of sampled vesicular disease, the absence of significant differences or the existence of marginally significant results among the variables, in relation to the proportion of foci and non-foci, leads us to believe that the reduced number of properties analysed may have been a limiting factor for the identification of risk factors for the occurrence of VS in the State of Ceará, when the criterion is based only on laboratory analysis. In this situation, a greater number of substantiated reports are required so that only seroprevalence or viral detection on the property serve as a basis for epidemiological studies. During the epidemiological investigation of outbreaks in Paraíba, Clementino et al. (2014) concluded that it was impossible to identify the origin of the virus, since no significant entry of VS susceptible animals was detected at sites within 3 km of the outbreak, 30 days before disease onset. Several studies have reported that it is often impossible to identify the origin of the infection and its reservoirs (De Stefano et al., 2002, Sepúlveda et al., 2007; Freitas et al., 2008).

## Conclusion

The present study concluded that among the variables analysed, the breeding of herds for milk and slaughter; the shared use of utensils, equipment and labor; the participation of herds in events with agglomerations and the proximity of the properties to risk areas were presented as risk factors for the occurrence of Vesicular Stomatitis. For a national program for the prevention and eradication of diseases such as PNEFA, where Vesicular Stomatitis is inserted, it is essential that epidemiological criteria be considered in the mitigation of risks and in the application of biosafety measures against viral dispersion and elimination of the infectious agent. However, the non-confirmation of these results when analysing only probable laboratory cases could be explained by the reduced number of properties included in this scenario, impairing a more detailed evaluation of these factors. Therefore, further studies should be developed by strengthening official veterinary services and by extending active and

passive surveillance so that more notifications occur and a greater number of likely cases are analysed.

#### Declaration of conflicting interests

The authors declare there aren't any conflicting interests regarding to this research and / or authorship and / or publication of this article.

#### Acknowledgements.

This research did not receive any specific financial support from funding agencies in the public, commercial or nonprofit sectors. We thank all the public servants of ADAGRI-CE members of the Special Group of Attention to Suspicion of Diseases - GEASE who promoted the field actions and data collection together with the author of the study; the National Agricultural and Livestock Laboratory (LANAGRO) of Minas Gerais and Pará, Brazil; to the entire ADAGRI-CE management team that authorized the use of the data to carry out the research.

#### References

- ARRUDA, R. C. N., et al. Investigação epidemiológica de Estomatite vesicular por achados clínicos em bovinos e equinos no Estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.35(5), p. 391-395, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de vigilância veterinária em doenças vesiculares – Orientações gerais**. Brasília - MAPA/SDA/DSA. p. 47. 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano de ação para Febre Aftosa – Volume I**. Brasília-DF. MAPA/SDA/DSA. 96p, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Definição de caso de Estomatite Vesicular e Fluxo de doença Vesiculares**; Circular nº 155 de 31.08.12, Brasília – DSA/MAPA. 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual do Sistema Nacional de Informação Zoossanitária - SIZ / Ministério da Agricultura**. 40. Brasília - DEP/CPACZ/DSA/SDA. 2013.
- CARGNELUTTI, J. F., et al. Outbreaks of Vesicular stomatitis Alagoas virus in horses and cattle in northeastern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.26(6), p.788–794, 2014.

CLEMENTINO, I. J., et al. Primeiro diagnóstico de estomatite vesicular no Estado da Paraíba, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, 35(5), p.2601-2606, 2014.

DANON, L., et al. Networks and the Epidemiology of Infectious Disease. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**. ed.2011, p.28. 2011.

DE STEFANO, E., et al. Revisão bibliográfica. Estomatite Vesicular. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.69, n.3, p.127-133, 2002.

FERRIS, N. P., et al. Development and laboratory evaluation of two lateral flow devices for the detection of vesicular stomatitis virus in clinical samples. **Journal of Virological Methods**, 180, p.96-100. 2012.

FREITAS, E. B., et al. Estomatite Vesicular - revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Garça, 6 (11), p.1-6. 2008.

GONÇALVES, A. G. C. M., et al. Caracterização dos aglomerados de animais oficiais no Ceará no período de 2011 a 2014. **Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, 14(2). p.78. 2016. Disponível em: <http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz/article/download/32107/35696> Acesso em: 01 Nov. 2017.

GOODGER, W. J., et al. Economic impact of an epizootic of bovine vesicular stomatitis in California. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.186(4), p. 370–373. 1985.

LETCHWORTH, G. J., et al. Vesicular stomatitis. **Veterinary Journal**, v.157, p.239-260, 1999. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023398903033> Acesso em: 20 jul. 2017.

LOPEZ-INZAURRALDE, A. **Distribuição especial e temporal da Estomatite Vesicular no Brasil, 1964-1996**. 1997. 68f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Disponível em: [http://vet.ufmg.br/ensino\\_posgraduacao/egresso/3\\_20100115105010\\_1050](http://vet.ufmg.br/ensino_posgraduacao/egresso/3_20100115105010_1050) . Acesso em: 06 jan. 2017.

LUNKES, V. L., et al. Antibodies against vesicular stomatitis virus in horses from southern, midwestern and northeastern Brazilian States. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.46(8), p. 1424-1429, 2016.

MACHADO, G. F., CHIMELLI, L., FIGUEIREDO, F., Vírus da Estomatite Vesicular (Sorotipo Indiana 2) como modelo experimental para o estudo de Encefalite Aguda – Aspectos morfológicos. **Semina: Ciências biológicas e da Saúde**, Londrina, 24, 11-20. 2003.

MASON, J. La Epidemiología de la estomatitis vesicular. **Boletín del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa**. 29/30, p.13-33. 1978

OIE. World Organization For Animal Health. Vesicular stomatitis. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 2.1.23**. Paris, 2015. Disponível em: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.01.23\\_VESICULAR\\_STOMATITIS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.23_VESICULAR_STOMATITIS.pdf) Acesso em: 02 Ago 2017.

PANAFTOSA. Centro Pan-americano de Febre Aftosa. Unidade de saúde pública veterinária – OPAS/OMS. **SIVCONT - Sistema Continental de Vigilância Epidemiológica - MANUAL DE OPERAÇÃO.** 1.0, p.125. 2003. Disponível em: <http://www.adagri.ce.gov.br/index.php/downloads/category/36-manuais-tecnicos> Acesso em: 10 Out. 2017.

PANAFTOSA. Centro Pan-americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS. **Manual veterinário de colheita e envio de amostras: manual técnico.** Cooperação Técnica MAPA/OPAS-PANAFTOSA para o Fortalecimento dos Programas de Saúde Animal do Brasil. Rio de Janeiro, p.218. 2010.

REMMERS, L., et al. Longitudinal Studies in the Epidemiology of Vesicular Stomatitis on Costa Rican Dairy Farms. **Annals New York academy of sciences - tropical veterinary diseases: control and prevention in the context of the new world order.** 916, p.417–430. 2000.

RIET-CORREA, F., et al. **Doenças dos ruminantes e equídeos.** Santa Maria: Pallotti, ed. 8, v.2, 108p, 2007.

SANTOS, D. V.; HEIN, H. E. A movimentação de animais em eventos de aglomeração no Rio Grande do Sul. **Informatico Técnico DDA/SEAPA-RS Nº8/Ano 05.** 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201612/02101337-inftec-53-a-movimentacao-de-animal-em-eventos-de-aglomeracao-no-rs.pdf>. Acesso em: 15 Nov. 2017.

SEPÚLVEDA, L. M., et al. Rapid diagnosis of vesicular stomatitis vírus in ecuador by the use of polymerase chain reaction. **Brazilian Journal of Microbiologic.** São Paulo, 38 (3) p.500-506, 2007.

**Table 1.** Investigation of suspected cases of vesicular syndrome notified to the official veterinary service

Property	Animal	Suspicion	Sample	LABORATORY TESTS					
				Serological		Molecular		Isolament	
				FMD <sup>1</sup>	VS <sup>2</sup>	FMD	VS	FMD	VS
Acaraú 002	Bov <sup>3</sup> 133	Probable	S <sup>5</sup> + EPF <sup>6</sup>	NR <sup>8</sup>	SC <sup>c</sup> > 4	NO <sup>10</sup>	ND <sup>11</sup>		
Amontada 001	Bov 015	Probable	S + EPF	NR	SC <sup>9</sup> < 4	NO	ND		
Aracoiaba 001		Discarded <sup>x</sup>	NC <sup>12</sup>						
Aracoiaba 002		Discarded <sup>y</sup>	NC						
Aracoiaba 003	Bov VG	Probable	S + EPF	NR	SC < 4	NO	ND		
Aracoiaba 004	Bov T	Probable	EP <sup>7</sup>					N <sup>14</sup>	I <sup>15</sup> = 0,939
	Bov GB		EP					N	I = 0,939
Aracoiaba 005	Bov 121	Probable	S	NR	SC < 4	NO	ND		Indiana 3
Boa Viagem 004		Discarded <sup>x</sup>	NC						
Caucaia 021	Equ <sup>4</sup> 102	Probable	S	NA <sup>13</sup>	SC < 4				
	Equ 103		S	NA	SC <sup>bc</sup> > 4				
	Equ 104		S	NA	SC < 4				
	Equ 105		S	NA	SC < 4				

Chaval 001	Bov 2034	Probable	S + EPF	NR	SC <sup>a</sup> > 4	NO	ND			
Chaval 002	Bov 2450	Probable	S + EPF	NR	SC < 4	NO	ND			
Chaval 003	Bov 2426	Probable	S + EPF	NR	SC <sup>a</sup> > 4	NO	ND			
Chaval 004	Bov 2428	Probable	S + EPF	NR	SC < 4	I	ND			
Coreaú 002	Bov 2435	Probable	EP					N	I = 1,727	Indiana 3
Coreaú 003	Bov 2439	Probable	S + EPF	NR	SC < 4	NO	ND			
Ibaretama 1032	Bov 1032	Probable	S + EPF	NR	SC <sup>b</sup> > 4	NO	ND			
Ibicuitinga 001	Bov PBFGF 1	Probable	EP					N	I = 1,299	Indiana 3
Irauçuba 003		Discarded <sup>z</sup>	NC							
Itapajé 001		Discarded <sup>z</sup>	NC							
Jaguaretama 001		Discarded <sup>z</sup>	NC							
Massapê 002		Discarded <sup>x</sup>	NC							
Miraíma 001		Discarded <sup>y</sup>	NC							
Miraíma 002	Bov 001	Probable	S + EPF	NR	SC < 4	NO	ND			
	Bov 002		S + EPF	NR	SC <sup>ab</sup> > 4	NO	ND			
	Bov 003		S + EPF	NR	SC < 4	NO	ND			
Miraíma 003	Bov C01	Probable	S + EPF	NR	SC < 4	NO	ND			
	Bov C02		S + EPF	NR	SC < 4	NO	ND			
M. Nova 007	Bov 094	Probable	S + EPF	NR	SC < 4	NO	ND			
M. Nova 008	Bov Am	Probable	EP					N	I = 1,14	Indiana 3
	Bov Ba		EP					N	I = 1,14	Indiana 3
	Bov Mi		EP			I	ND			
M. Nova 009	Bov Gr	Probable	S + EP	NR	SC < 4			N		N
Ocara 001	Equ 001	Probable	S	NA	SC <sup>c</sup> > 4					
	Bov 4718		EP					N	I = 1,095	Indiana 3
Ocara 002	Bov 4725	Probable	S	NR	SC <sup>c</sup> > 4					
Ocara 003	Bov 4706	Probable	S	NR	SC < 4					
	Bov 4707		S	NR	SC < 4					
	Bov 4708		EP					N	I = 0,878	Indiana 3
Ocara 004	Bov 4722	Probable	S	NR	SC < 4					
Ocara 005	Bov 4709	Probable	S	NR	SC < 4					
	Bov 4710		S	NR	SC < 4					
	Bov 4711		S	NR	SC < 4					
	Bov 4712		S	NR	SC <sup>bc</sup> > 4					
	Mule 001		S	NA	SC <sup>ab</sup> > 4					
Ocara 006	Bov 4714	Probable	S	NR	SC < 4					
	Bov 4715		S	NR	SC < 4					
Pires Ferreira 001		Discarded <sup>x</sup>	NC							
Potiretama 001		Discarded <sup>x</sup>	NC							
Potiretama 002		Discarded <sup>x</sup>	NC							
Quixadá 006		Discarded <sup>x</sup>	NC							
Quixeramobim 003		Discarded <sup>y</sup>	NC							
S.G. Amarante 002	Bov SGA 001	Probable	EP					N	I = 0,783	NO
	Bov SGA 002		S + EP	NR	SC < 4			N		N
	Bov SGA 003		S + EP	NR	SC < 4			N		N
	Bov SGA 004		EP					N		N

	Equine SGA 005	S	NA	SC < 4			
	Bovine SGA 020	S + EP	NR	SC < 4	N	N	
	Bovine SGA 021	S	NR	SC < 4			
S.L. Curu 001	Equine SLC 001	Probable	S	NA	SC <sup>c</sup> > 4		
	Equine SLC 002		S	NA	SC <sup>abc</sup> > 4		
	Bovine SLC 005		S + EP	NR	SC <sup>bc</sup> > 4	N	N
	Bovine SLC 006			EP		N	I = 1,271 Indiana 3
S.L. Curu 002	Bovine SLC 020	Probable	S + EP	NR	SC < 4	N	N
	Bovine SLC 021		S + EP	NR	SC < 4	N	N
	Bovine SLC 022		S + EP	NR	SC < 4	N	N
	Equine SLC 024		S	NA	SC <sup>bc</sup> > 4		
S.L. Curu 003	Bovine SLC 030	Probable	EP			N	I = 1,282 Indiana 3
	Bovine SLC 031		S	NR	SC < 4		
	Bovine SLC 032		EP			N	I = 1,282 Indiana 3
	Equine SLC 033		S	NA	SC <sup>bc</sup> > 4		
	Equine SLC 034		S	NA	SC <sup>c</sup> > 4		
	Bovine SLC 040		S	NR	SC < 4		
	Bovine SLC 041		S	NR	SC < 4		
	Bovine SLC 042		S	NR	SC < 4		
Sobral 008	Equine SLC 043		S	NA	SC < 4		
	Bovine 2316	Probable	EP			N	I = 1,065 NO
	Bovine 2318		EP			N	I = 1,066 NO
Sobral 009	Bovine 2325		EP			N	I = 1,067 NO
	Bovine 2312	Probable	S		SC < 4		
	T. Norte 017	Bovine AVFGS	Probable	S	SC < 4		
Umirim 002		Discarded <sup>y</sup>	NC				
C. Sales 004		Discarded <sup>x</sup>	NC				
Mauriti 015		Discarded <sup>y</sup>	NC				
Parambu 004		Discarded <sup>z</sup>	NC				
Chaval 005	Bovine P	Probable	EP			N	N
	Bovine B		EP			N	N
	Equine R		EP			N	N
Itatira 003		Discarded <sup>w</sup>	NC				

<sup>1</sup> FMD = Foot-and-Mouth disease, <sup>2</sup> VS = Vesicular Stomatitis, <sup>3</sup> Bov = Bovine, <sup>4</sup> Equi = Equine, <sup>5</sup> S = Serum, <sup>6</sup> EPF = Esophagus-pharyngeal fluid,

<sup>7</sup> EP = Epithelium, <sup>8</sup> NR = Not reaction, <sup>9</sup> SC = Seroconversion, <sup>10</sup> Not observed, <sup>11</sup> ND = Not detected, <sup>12</sup> NC = Not collected, <sup>13</sup> NA = Does not apply, <sup>14</sup> N = Negative, <sup>15</sup> I = Indiana, <sup>a</sup> = Indiana 1, <sup>b</sup> = Indiana 2, <sup>c</sup> = Indiana 3, <sup>x</sup> = Pododermatitis, <sup>y</sup> = No symptoms, <sup>z</sup> = Trauma, <sup>w</sup> = Intoxication

**Table 2.** Characteristics of notified rural properties

Characteristics	Settlement	All suspected cases			Only probable cases		
		Non-Foci	Foci	Total	Non-Foci	Foci	Total
Type of property	Settlement	7	4	11	2	3	5
	Particular	20	20	40	11	17	28
Breeding	Semi-intensive	11	9	20	6	7	13
	Extensive	16	15	31	7	13	20

Purpose of breeding	Breeding	10	5	15	4	4	8
	Subsistence	17	19	36	9	16	25
Kind of breeding	Meat	8 <sub>a</sub>	2 <sub>a</sub>	10	3	1	4
	Milk	9 <sub>a, b</sub>	6 <sub>a, b</sub>	15	5	5	10
	Combined	10 <sub>b</sub>	15 <sub>b</sub>	25	5	13	18
	Sport	0 <sub>a, b</sub>	1 <sub>a, b</sub>	1	0	1	1
Objective of livestock	Market	15	11	26	6	10	16
	Consumption	12	13	25	7	10	17
Breeding of liable consorted species	No	7	4	11	1	4	5
	Yes	20	20	40	12	16	28

Different letters between the data in the columns refer to ones with p < 0,05

**Table 3.** Epidemiological questionnaire applied during investigations of suspected cases.

Questions		All suspected cases			Only probable cases		
		Non-Foci	Foci	Total	Non-Foci	Foci	Total
Do you use neighbors' facilities or equipment or vice versa?	No	23 <sub>a</sub>	13 <sub>a</sub>	36	10	10	20
	Yes	4 <sub>b</sub>	11 <sub>b</sub>	15	3	10	13
Has there been a recent influx of vehicles that may carry infectious agents?	No	21	19	40	8	16	24
	Yes	5	1	6	3	1	4
Has anyone in the establishment with access to susceptible animals visited another establishment with susceptible animals in the last 30 days?	No	10	9	19	2	7	9
	Yes	16	15	31	11	13	24
Have you received people who work or have access to susceptible animals from other establishments?	No	9	5	14	3	3	6
	Yes	18	19	37	10	17	27
Is there a history of feed change in handling?	No	22	21	43	13	17	30
	Yes	5	3	8	0	3	3
Do you use labor from neighbors or vice versa?	No	23 <sub>a</sub>	11 <sub>a</sub>	34	8	9	17
	Yes	4 <sub>b</sub>	13 <sub>b</sub>	17	5	11	16
Is there history of ingestion of toxic plants leading to clinical signs similar to the suspected or investigated focus?	No	17	17	34	10	14	24
	Yes	8	6	14	1	5	6
Do the animals in the establishment participate in agglomeration events?	No	27 <sub>a</sub>	20 <sub>a</sub>	47	13	16	29
	Yes	0 <sub>b</sub>	4 <sub>b</sub>	4	0	4	4
Proximity to properties with motorways, dumps, airports, cold	No	23 <sub>a</sub>	13 <sub>a</sub>	36	11	11	22
	Yes	4 <sub>b</sub>	11 <sub>b</sub>	15	2	9	11

stores, dairy, among others?

Different letters between the data in the columns refer to ones with  $p < 0,05$

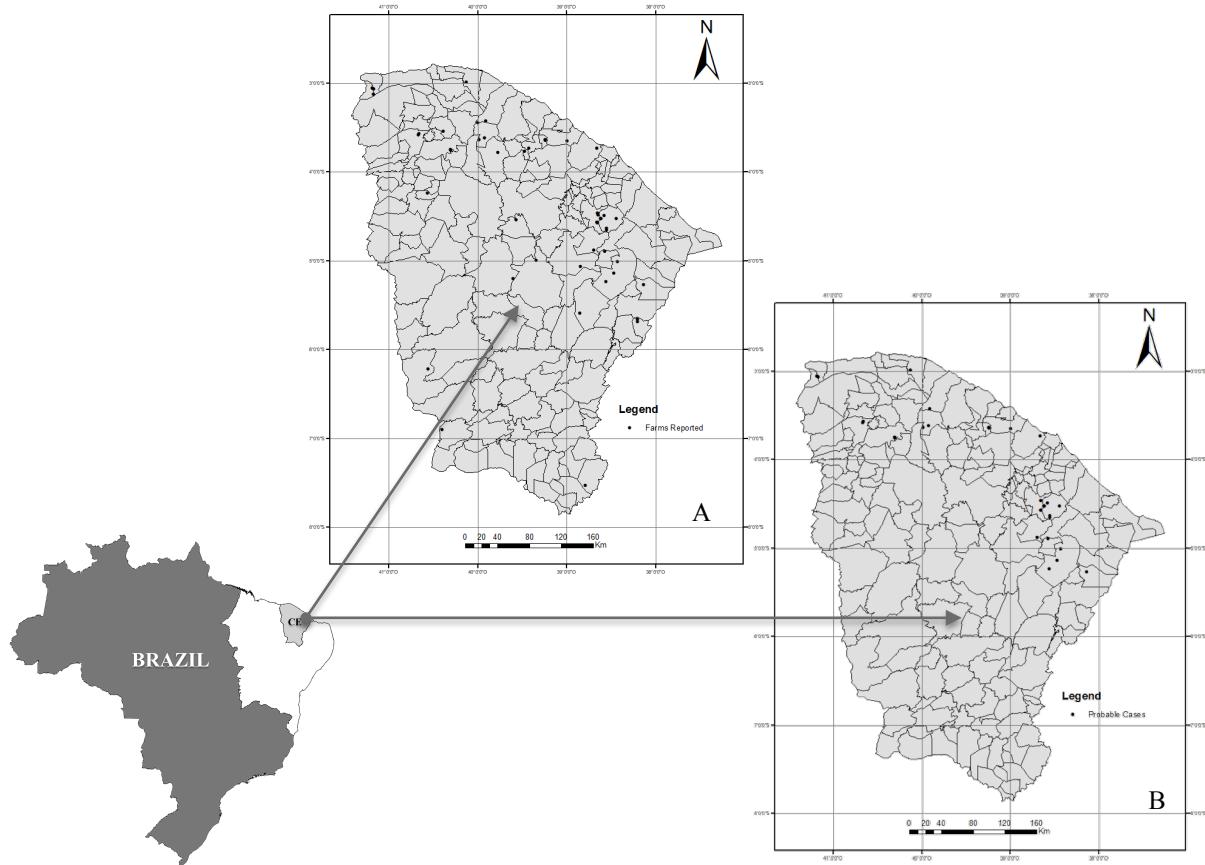
**Table 4.** Evaluation of procedures of suspected cases.

Origin of notification	Owner	All suspected cases			Only probable cases		
		Non-Foci	Foci	Total	Non-Foci	Foci	Total
Reason of the investigation	Clinical signs	11 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	16	4	5	9
Time of response of the notifier	Epidemiological bond	0 <sub>b</sub>	7 <sub>b</sub>	7	3	4	7
Time of response of the OVS	$\leq 10$ days	18	20	38	10	16	26
	> 10 days	9	4	13	3	4	7
Time of response of the OVS	$\leq 12$ hours	14	13	27	9	11	20
	> 12 hours	13	11	24	4	9	13

<sup>1</sup> OVS = Official Veterinary Service

Different letters between the data in the columns refer to ones with  $p < 0,05$

**Figure 1.** Geographic location of all suspected cases (A) and only probable cases (B) of vesicular syndrome



## **APÊNDICE.**

## APÊNDICE – Processo de autorização para utilização de dados.

 <p><b>GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ</b></p>		SISTEMA DE VIRTUALIZAÇÃO DE PROCESSOS-VIPROC <b>Nº DO PROCESSO:</b> 8108013/2013 <b>DATA:</b> 09/12/2013 <b>HORA:</b> 11:47	
<b>ORIGEM</b>  AGENCIA DE DEFESA AGROPECUARIA DO ESTADO DO CEARA			
<b>ASSUNTO</b> ENCAMINHAMENTO / MEMORANDO		<b>OBSERVAÇÕES</b> UTILIZAÇÃO DE DADOS PARA PUBLICAÇÃO DE MATERIAL DIDÁTICO E PROJETO DE MESTRADO.	
<b>AUTOR(ES)</b> ADAGRI		<b>FAVORECIDO(S)</b> CELIO SOUZA DA ROCHA	
<b>TRAMITAÇÕES DO PROCESSO</b>			
DÉ	PARA	DATA	RESPONSÁVEL PELO TRÂMITE
ADAGRI - DISAN	ADAGRI - PRESI	10/06/2014	LARISSA DUTRA
ADAGRI - PRESI	ADAGRI - GERAFL	10/06/2014	LIA RIOS
ADAGRI - GERAFL	ADAGRI - SEPRO	11/06/2014	MARCOS FERNANDES
ADAGRI - SEPRO	ADAGRI - ULARA	11/06/2014	FELIPE AZIM
ADAGRI - ULARA	ADAGRI - ULARA	08/08/2014	JANIENNE

Impressão realizada por:

DANIEL VICTOR SARAIVA - ADAGRI/ULARA

24/09/2015 15:44:55



**GOVERNO DO  
ESTADO DO CEARÁ**  
*Secretaria do Desenvolvimento Agrário*



MEMORANDO N° 68/2013

Aracati, 09 de dezembro de 2013.

DE: UNIDADE LOCAL DE ARACATI

PARA: PRESI – Francisco Augusto Sousa Junior

DISAN – José Amorim Sobreira Neto

Coordenador do PEEFA – Joaquim Sampaio Barros

GERIN – Hermeline Quirino

ASSUNTO: Utilização de dados para publicação de material didático e projeto de Mestrado

Venho através deste oficializar solicitação de utilização de dados vinculados ao Programa Estadual de Erradicação e Prevenção da Febre Aftosa e outras Enfermidades Vesiculares para produção de 02 projetos:

- Elaboração de material didático descritivo sobre o Inquérito Soroepidemiológico Para Avaliação de Circulação do Vírus da Febre Aftosa no Estado do Ceará relatando todo o processo sorológico executado pelos Fiscais Médicos Veterinários e Agentes Agropecuários durante os anos de 2012 e 2013 habilitando a mudança de Status Sanitário.
- Elaboração de Projeto de Mestrado no programa de pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA sob orientação do Prof. Dr. Sidney Miyoshi Sakamoto utilizando os dados coletados durante a execução das atividades de campo em focos de Estomatite Vesicular durante epidemia da mesma em 2013 e possíveis novos casos a posteriori.

Atenciosamente,

Célio Souza da Rocha

Fiscal Estadual Agropecuário



ADAGRI

Fl. \_\_\_\_\_



## FOLHA DE INFORMAÇÃO E DESPACHO

Nº Processo:

8708013/2013

DA:

Interessado:

Para:

Assunto:

Data do despacho:

A

DISAN,

Para análise conjuntamente  
com a PROJU e encaminha-  
mentos a Presidência.

09/12/2013

Augusto Junior  
Presidente  
ADAGRI

A GERAR e NUVEP,  
Planação conjunta e parecer. 16/12/13

José Antônio Sobreira Neto  
Diretor de Sanidade Animal  
ADAGRI

A DISAM

ESTA GERENCIAS ESTÁ  
DE ACORDO COM A SOUTEL SAÚDE

EM 05/10/14

De acordo  
Antônio Sampaio Barros  
05/05/2014

Joaquim Sampaio Barros

Serviço de Avaliação de Risco

ADAGRI Bezerra de Menezes, 1820 – 60.834-220 – Fortaleza-Ceará

Fone: (85) 3101-2500 – Fax: (85) 3101-2499

E-mail: adagri@adagri.ce.gov.br



**GOVERNO DO  
ESTADO DO CEARÁ**

*Secretaria do Desenvolvimento Agrário*



ADAGRI  
Nº

**FOLHA DE INFORMAÇÃO E DESPACHO**

Nº Processo: 8108013/2013

Interessado: CÉLIO SOUZA DA ROCHA

Assunto: UTILIZAÇÃO DE DADOS

De: DISAN

Para: PRESI

Data do despacho:  
09/06/2014

Senhor Presidente,

Esta Diretoria está de acordo com a solicitação.

Sem mais para o momento,

**José Amorim Sobreira Neto**  
DIRETOR DE SANIDADE ANIMAL

A GERAf/ADAGRI  
PARA OS ENCAMINHAMENTOS  
E PROVIDÊNCIAS CABIVEIS  
EM 10 / 06 / 14

*Para comunicar  
ao fiscal do  
referido Parecer  
a 10/06/2014*

~~Augusto Junior~~  
Presidente  
ADAGRI

Av. Bezerra de Menezes, 1820 – 60.834-220 – Fortaleza-Ceará  
Fone: (85) 3101-2500 – Fax: (85) 3101-2499  
E-mail: adagri@adagri.ce.gov.br



## FOLHA DE INFORMAÇÃO E DESPACHO

Nº Processo: 81080113/2014	De: GERA/ADAGRI
Interessado: ADAGRI	Para:
Assunto:	Data do despacho: 11/06/14

Ao dr. Célio Rocha,

Conforme despacho da DISAN, página 4, sua solicitação foi deferida.

Francisco Gladson Coutinho Rodrigues  
Gerente Administrativo Financeiro  
ADAGRI

Av. Bezerra de Menezes, 1820 – 60.834-220 – Fortaleza-Ceará  
Fone: (85) 3101-2500 – Fax: (85) 3101-2499  
E-mail: adagri@adagri.ce.gov.br

**ANEXOS.**

## ANEXO A - FORM-IN (ADAGRI)



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA  
Secretaria de Defesa Agropecuária – SDA  
Departamento de Saúde Animal – DSA



Governo do Estado do Ceará  
Secretaria do Desenvolvimento Agrário - SDA  
Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará - ADAGRI

**FORM  
IN**

### Formulário de Investigação de Doenças – INICIAL

1. UF

2. N°

Código da UF e do município no IBGE

Nº sequencial do FORM IN

3. Documento retificador?  
 Não  
 Sim →(preencher item 16)

#### 4. Informações sobre a notificação ou motivo da investigação

##### 4.1. Fonte da notificação:

- Propriedade
- Sinais clínicos
- Lesões/achados em matadouro
- Vigilância pelo SVO
- Mortalidade
- Resultado de teste de diagnóstico
- Terceiros
- Vínculo epidemiológico → FORM IN vinculado:

1. UF

2. N°

Código da UF e do município no IBGE

Nº sequencial do FORM IN

3. Documento retificador?  
 Não  
 Sim →(preencher item 16)

##### 4.2. Motivo inicial para investigação da ocorrência:

- Sinais clínicos
- Lesões/achados em matadouro
- Resultado de teste de diagnóstico

##### 4.3. Data e hora de recebimento da notificação ou motivo da investigação:

dd/mm/aaaa : hh : mm

#### 4.4. Descrição da notificação ou motivo da investigação:

#### 5. Informações sobre o estabelecimento

Nome:

Município de localização:

Unidade Regional:

Proprietário:

Telefone:

Código do proprietário:

Código do estabelecimento:

Endereço:

Total de produtores:

- Tipo:  Propriedade rural  Assentamento  Hospital/clínica vet./CCZ  Unidade de pesquisa  Unidade militar  Sítio de aves migratórias Sistema de criação:  Intensivo  Semi-intensivo   
 Aldeia indígena  Comunitário  Local para aglomeração  Soltos ou de periferia  Confinamento  Extensivo  Não se aplica

Datum utilizado  
 Coordenadas geográficas →  SAD 69  
 SIRGAS 2000  
 WGS 84

Formato Sexagesimal (Graus, Minutos e Segundos)  
 Latitude: °   '   " ou   °   '   " ou  
 Longitude: °   '   " ou   °   '   "

Formato Grau decimal  
 Hemisfério:  Norte ou  Sul

Quadrante estadal  
 H      V  
 \_\_\_\_\_

#### 6. Informações sobre o contato principal no estabelecimento

Nome:

Tel. Fixo:

Celular:

Condão ou função no estabelecimento:  Proprietário  Produtor  Parente  Médico veterinário  Funcionário (administrador, capataz, caseiro etc)

#### 7. Resultado da Investigação

7.1. Data e hora de abertura do FORM-IN:  
 (primeira visita do SVO)

dd/mm/aaaa    hh    mm

7.2. Provável início do evento:  
 dd/mm/aaaa

7.3. Investigação encerrada?  Sim ou  Não

7.4. O motivo inicial para investigação da ocorrência (itens 4.2 e 4.4) se enquadrava em suspeita de doença alvo da vigilância síndromica?  Sim ou  Não

7.5. Após a investigação, a ocorrência se enquadra em qual das duas opções abaixo:

7.5.1. Caso provável ou confirmado de doença-alvo da síndrome:  Vesicular  Hemorrágica dos suínos  Nervosa  Respiratória ou nervosa das aves

OU

7.5.2. Caso provável ou confirmado de outra doença (incluindo caso descartado de doença-alvo) com o seguinte diagnóstico:

Provável: \_\_\_\_\_

OU Conclusivo: \_\_\_\_\_

#### 7.6. Descrição dos principais achados e ocorrências

7.6.1. Anamnese e descrição dos sinais clínicos, das lesões e dos achados de necropsia (órgãos, lesões e alterações)

7.6.2. Observações gerais



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA  
Secretaria de Defesa Agropecuária – SDA  
Departamento de Saúde Animal – DSA



Governo do Estado do Ceará  
Secretaria do Desenvolvimento Agrário - SDA  
Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará - ADAGRI

**8. Informações sobre a população de animais terrestres e características das explorações pecuárias existentes**

Animal	Faixas etárias ou espécies de aves	Animais existentes			Casos		Mortos	Abatidos sob inspeção	Destruídos	Examinados	Assinalar espécies principais <input type="checkbox"/>	Informar destino principal das explorações pecuárias existentes (de acordo com opções abaixo)*** <input type="checkbox"/>
		No dia da inspeção			No início da ocorrência	Confirmados						
		Machos	Fêmeas	Total								
Bovinos	Até 12 m			0								
	13 a 24 m			0								
	25 a 36 m			0								
	> 36 m			0								
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Bubalinos	Até 12 m			0								
	13 a 24 m			0								
	25 a 36 m			0								
	> 36 m			0								
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Caprinos	Até 12 m			0								
	> 12 m			0								
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Até 12 m			0								
	> 12 m			0								
Ovinos	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Cachaço/Matriz			0								
	Leitão(oa)			0								
	Demais											
	Somente total →											
Suídeos	Outros*	Até 6 m										
		> 6 m										
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Até 6 m			0								
	> 6 m			0								
Equinos	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Até 6 m			0								
	> 6 m			0								
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Até 6 m			0								
Asininos	> 6 m			0								
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Até 6 m			0								
	> 6 m			0								
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Muares	Até 6 m			0								
	> 6 m			0								
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Frangos/Galinhas			0								
	Perus			0								
Aves	Anseriformes			0								
	Ratitas			0								
	Outras aves**			0								
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Colmeias											
Lagomorfos (coelhos)	Lagomorfos (coelhos)			0								
	Outra			0								

\* Outros suídeos  Javali  Cateto  Queixada   \*\* Outras aves:  Codorna  Perdiz  Galinha D'Angola  Psitaciformes  Aves silvestres  Passeriformes  Faisão

\*\*\* Tipos de destino: 1. Comércio de animais; 2. Comércio de produtos; 3. Consumo próprio; 4. Produção de biológicos; 5. Companhia; 6. Esporte/Lazer; 7. Trabalho

**9. Indicar as características predominantes da exploração pecuária (tipo, finalidade e fase da produção)**

Bov/bub	<input type="checkbox"/> corte	<input type="checkbox"/> Leite	<input type="checkbox"/> Mista	→ <input type="checkbox"/> Ciclo completo	<input type="checkbox"/> Cria/recria	<input type="checkbox"/> Engorda	<input type="checkbox"/> Terminação	<input type="checkbox"/> Subsistência
Caprinos	<input type="checkbox"/> corte	<input type="checkbox"/> Leite	<input type="checkbox"/> Mista	→ <input type="checkbox"/> Ciclo completo	<input type="checkbox"/> Cria/recria	<input type="checkbox"/> Engorda	<input type="checkbox"/> Terminação	<input type="checkbox"/> Subsistência
Ovinos	<input type="checkbox"/> corte	<input type="checkbox"/> Leite	<input type="checkbox"/> Mista	<input type="checkbox"/> Lã	→ <input type="checkbox"/> Ciclo completo	<input type="checkbox"/> Cria/recria	<input type="checkbox"/> Engorda	<input type="checkbox"/> Terminação
Suínos	<input type="checkbox"/> Criatório (subsistência)			Granjas	→ <input type="checkbox"/> Ciclo completo	<input type="checkbox"/> UPL	<input type="checkbox"/> Creche	<input type="checkbox"/> Recria
Equideos	<input type="checkbox"/> Haras	<input type="checkbox"/> Unidade Militar	<input type="checkbox"/> Sociedade hípica	<input type="checkbox"/> Jóquei clube	<input type="checkbox"/> Propriedade de espera de abate	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Propriedade fornecedora de equideos	
Aves	<input type="checkbox"/> Subsistência	<input type="checkbox"/> Ciclo completo	<input type="checkbox"/> Ciclo parcial	<input type="checkbox"/> Cria/recria	<input type="checkbox"/> Engorda	<input type="checkbox"/> Reprodução	<input type="checkbox"/> Bisavoseiro	<input type="checkbox"/> Avoseiro
	<input type="checkbox"/> Comercial postura	<input type="checkbox"/> Comercial corte	<input type="checkbox"/> Recria de postura	<input type="checkbox"/> Recria de reprodução	<input type="checkbox"/> Produção de ovos controlados	<input type="checkbox"/> Matrizero	<input type="checkbox"/> Incubatório	<input type="checkbox"/> SPF
Abelhas	<input type="checkbox"/> Rainha	<input type="checkbox"/> Mel	<input type="checkbox"/> Extrato de própolis	<input type="checkbox"/> Própolis	<input type="checkbox"/> Geleia real	<input type="checkbox"/> Pólen	<input type="checkbox"/> Apitoxina	<input type="checkbox"/> Cera
Coelhos	<input type="checkbox"/> Produção de carne	<input type="checkbox"/> Comércio de pele ou pelo	<input type="checkbox"/> Genética	<input type="checkbox"/> Animal de laboratório				

**10. Medidas adotadas no estabelecimento, pelo serviço veterinário oficial ( não se aplica)**

Interdição  Isolamento de animais  Limpeza e desinfecção  Combate a vetores  Vacinação  Vazio sanitário  Introdução de sentinelas  Sequestro de produtos  Destruição de produtos

Não Identificada

**11. Provável origem:**

\* Avaliar os seguintes elementos: contato direto com animais doentes; vínculo epidemiológico com foco; restos de alimento; ração; águas ou pastagens comuns; cama de frango; pessoas (incluir médicos veterinários, trabalhadores rurais, vizinhos, parentes, entre outros); propriedade vizinha; veículo contaminado; eventos pecuários; ingresso de animais (verificar origem e tempo); contato com animais silvestres (informar nome vulgar ou científico); contato com agentes químicos ou físicos; produtos ou subprodutos de origem animal; material de multiplicação animal; fômites (objetos, utensílios e equipamentos); via aérona; vetores; plantas tóxicas; medicamentos; vacinas; lixo/dejetos, relação genealógica; mesma origem dos animais.



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA  
Secretaria de Defesa Agropecuária – SDA  
**Departamento de Saúde Animal – DSA**



Governo do Estado do Ceará  
Secretaria do Desenvolvimento Agrário - SDA  
**Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará - ADAGRI**

12. Informações para apoiar a investigação de causa e origem, e a identificação de vínculos epidemiológicos (SI = sem informação)

- |   |   |  |   |
|---|---|--|---|
| <p>a) O estabelecimento é utilizado para atividades de turismo?</p> <p>b) Compartilha equipamentos ou instalações com outros estabelecimentos?</p> <p>c) Houve ingresso recente de veículos que possam carregar agente infeciosos? (destaque para caminhões boadeiros ou de coleta de leite)</p> <p>d) Os animais do estabelecimento participam de eventos de aglomerações (leilões, festas do laço, pesagem ou pousada de animais, entre outras)</p> <p>e) Alguém do estabelecimento com acesso aos animais suscetíveis visitou outro estabelecimento com animais suscetíveis nos últimos 30 dias?</p> <p>f) Recebeu visitas de pessoas com acesso a animais suscetíveis de outros estabelecimentos?</p> | <input type="checkbox"/> Não<br><input type="checkbox"/> Sim<br><input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> g) Há histórico de mudança de alimentação ou manejo?<br><input type="checkbox"/> h) Utiliza mão de obra de vizinhos, ou vice-versa?<br><input type="checkbox"/> i) O estabelecimento é utilizado para aglomerações de animais? (leilões, festas do laço, pesagem ou pousada de animais etc.)<br><input type="checkbox"/> j) Proximidade/divisão do estabelecimento com rodovias, lixões, aeroportos, frigoríficos, laticínios, entre outros.<br><input type="checkbox"/> k) Alguém do estabelecimento com acesso aos animais suscetíveis visitou outro país nos últimos 30 dias?<br><input type="checkbox"/> l) Há histórico de ingestão de plantas tóxicas que levam a sinais clínicos semelhantes à suspeita ou foco investigado? | <input type="checkbox"/> Não<br><input type="checkbox"/> Sim<br><input type="checkbox"/> SI |
|---|---|--|---|

**13. Últimas vacinações (relacionadas com a suspeita ou foco)**

Sem informação  Não houve

Doença	Nome comercial da vacina	Fabricante	Partida (NNN/AA)	Data da vacinação (dd/mm/aaaa)
			/	
			/	

**14. Principais medicamentos que possam influenciar na manifestação de sinais clínicos ou no resultados dos testes laboratoriais da suspeita ou foco investigado**

Sem informação  Uso de vários medicamentos no lote ou grupo de animais investigados ou  Não utilizou

Doença	Nome comercial do produto	Via de administração	Período da aplicação(dd/mm/aa)
			a
			a

15. Trânsito de animais, seus produtos e subprodutos, possivelmente relacionados com a suspeita ou f

Sem informação  Não houve

### Período avaliado (dias)

\* Caso haja possibilidade de imprimir extrato de movimentação animal do(s) produtor(es) com exploração pecuária na propriedade, não há necessidade de preencher os campos referentes à GTA (referido extrato deverá ser anexado ao presente formulário), registrando apenas a movimentação de produtos e subprodutos ou a movimentação de animais sem emissão de GTA ou com emissão ainda não registrada no sistema de controle da movimentação animal.

16. No caso de documento retificador, citar o(s) número(s) do(s) item(ns) alterado(s) e justificar a(s) alteração(ões)→

Data da retificação (dd/mm/aaaa):

Version 2.0 - 2018-09-20 - Page 10 of 10 | Last updated 2018-09-20

17. Houve colheita de amostras neste atendimento?  Não ou  Sim

18. Assinular os formulários →  01. Form SV  03. Form SRN  05. Form EQ  07. Folha adicional  09. Form AIE \_\_\_\_\_  11. Form Maleína  
 02. Form SH  04. Form LAB  06. Extrato GTA  08. Form SN  10. Form Mormo  12. Resenho

19. Identificação, formas de contato e assinatura do médico veterinário responsável pelo atendimento.

Nome	CRMV	CPF	
Município de lotação	UF	Unid. Regional	Matrícula SVO
E-mail	Tel. fixo	Celular	

Carimbo e  
Assinatura

## **ANEXO B – Confirmação de submissão Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**

ScholarOne Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>

The screenshot shows the ScholarOne Manuscripts interface. At the top, there is a navigation bar with a menu icon and the text "Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia". Below the navigation bar, there are two buttons: "Home" and "Author". The "Author" button is highlighted with a darker background and white text.

### Submission Confirmation

Print

**Thank you for your submission**

**Submitted to** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

**Manuscript ID** ABMVZ-2018-10501

**Title** Detection of Vesiculovirus serotype Indiana III (Alagoas/VSAV) during outbreaks of Vesicular Stomatitis in the State of Ceará, Brasil.

**Authors** da Rocha, Célio  
Oliveira, Ilanna  
Moura, Gabriela Hemylin  
Brilhante Bezerra, José  
Rondon, Fernanda  
Vasconcelos, David  
Almeida, Mônica  
Calabuig, Cecília  
de Paula Antunes, João

**Date Submitted** 03-Jan-2018

[Author Dashboard](#)

## **ANEXO C – Confirmação de submissão Preventive Veterinary Medicine**

Email – celiorocha.vet@hotmail.com

<https://outlook.live.com/owa/?path=/mail/inbox/rp>

### Fwd: Your co-authored submission

**João Marcelo Azevedo de Paula Antunes**

qui 04/01/2018 15:10

Para:Célio Rocha <celiorocha.vet@hotmail.com>;

----- Mensagem encaminhada -----

De: Preventive Veterinary Medicine <[EviseSupport@elsevier.com](mailto:EviseSupport@elsevier.com)>

Data: qui, 4 de jan de 2018 às 11:34

Assunto: Your co-authored submission

Para: <[joao.antunes@ufersa.edu.br](mailto:joao.antunes@ufersa.edu.br)>

Dear Dr. Antunes,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Preventive Veterinary Medicine

Title: IDENTIFICATION OF RISK FACTORS FOR THE OCCURRENCE OF VESICULAR STOMATITIS BY EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATION OF NOTIFIED CASES TO OFFICIAL VETERINARY SERVICE.

Corresponding Author: João Marcelo Antunes

Co-Authors: Celio Rocha, Ilanna Oliveira, Gabriela Hémylin Ferreira Moura, José Bezerra, Annira Cortez, Igor Ibiapina, José Junior, Cecilia Calabuig

João Marcelo Antunes submitted this manuscript via Elsevier's online submission system, EVISE®. If you are not already registered in EVISE®, please take a moment to set up an author account by navigating to [http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL\\_ACR=PREVET](http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL_ACR=PREVET)

If you already have an ORCID, we invite you to link it to this submission. If the submission is accepted, your ORCID will be transferred to ScienceDirect and CrossRef and published with the manuscript.

To link an existing ORCID to this submission, or sign up for an ORCID if you do not already have one, please click the following link: [Link ORCID](#)

What is ORCID?

ORCID is an open, non-profit, community-based effort to create and maintain a registry of unique researcher identifiers and a transparent method of linking research activities and outputs to these identifiers.

More information on ORCID can be found on the ORCID website, <http://www.ORCID.org>, or on our ORCID help page: [http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/2210/p/7923](http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/2210/p/7923)

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author directly at [joao.antunes@ufersa.edu.br](mailto:joao.antunes@ufersa.edu.br).

Email – celiorocha.vet@hotmail.com

<https://outlook.live.com/owa/?path=/mail/inbox/rp>

Thank you,  
Preventive Veterinary Medicine

**This message was sent automatically. Please do not reply**

--

**D.Sc. M.V. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes**

Coordenador da COREMU (Comissão de Residência Multiprofissional e em Área Profissional da Saúde da UFERSA)  
Médico Veterinário do Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA  
Endereço (Address): Av. Francisco Mota, 572, Bairro Costa e Silva, Mossoró-RN, CEP: 59625-900  
Tel: +(55) 084 3317 8310 Cel: +(55) 084 98602 7545  
**Curriculum Lattes:** <http://lattes.cnpq.br/4718683077685105>

*DVM Ph.D. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes  
Veterinarian at the Veterinary Hospital of UFERSA, Brazil*