

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Soroprevalência, prevalência e fatores de risco associados à
infecção por *Lawsonia intracellularis* em equino em Minas
Gerais, Brasil**

Yessica Lorena Guzman Barragan
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

YESSICA LORENA GUZMAN BARRAGAN

**Soroprevalência, prevalência e fatores de risco associados à
infecção por *Lawsonia intracellularis* em equino em Minas
Gerais, Brasil**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Carlos E. Real Pereira

Coorientadora: Talita Pilar Resende

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

G993s
2024
Guzmán Barragán, Yessica Lorena, 2025-
Soroprevalência, prevalência e fatores de risco associados à
infecção por *Lawsonia intracellularis* em equinos em Minas
Gerais, Brasil / Yessica Lorena Guzmán Barragán. – Viçosa,
MG, 2024.

1 dissertação eletrônica (45 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Carlos Eduardo Real Pereira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Veterinária, 2024.

Referências bibliográficas: f. 34-42.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.023>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Cavalos - Doenças. 2. Intestinos - Doenças. 3. *Lawsonia*
(Bactéria). I. Pereira, Carlos Eduardo Real, 1987-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 636.108963427

YESSICA LORENA GUZMAN BARRAGAN

**Soroprevalência, prevalência e fatores de risco associados à
infecção por *Lawsonia intracellularis* em equino em Minas
Gerais, Brasil**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 19 de dezembro de 2024.

Assentimento:

Yessica Lorena Guzman Barragan
Autora

Carlos Eduardo Real Pereira
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 24/01/2025 às 17:53:30 e pelo orientador em 30/01/2025 às 08:35:13. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **6RKM.UW46.174G** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por ter me dado saúde, força e a perseverança para chegar até aqui.

Aos meus pais, por seu amor incondicional e apoio constante.

A meus irmãos e minha sobrinha, por serem meus companheiros de vida e por sempre acreditarem em mim e me apoiarem durante meu processo.

Ao professor Carlos Eduardo, pela confiança, orientação e pela oportunidade de fazer parte deste projeto.

Às Professoras Talita e Andreia, pela valiosa colaboração.

Ao grupo de pesquisa Foal Lab, pela enorme ajuda com as coletas, especialmente a Anaïs, cuja companhia e histórias tornaram as viagens mais agradáveis.

A Luís Henrique por seu apoio e acompanhamento dedicado durante o processamento das amostras.

Ao Grupo de Patologia Veterinária da UFMG, por sua colaboração na realização das provas diagnósticas.

Aos Professores Priscila e Ricardo, pela colaboração e acompanhamento do meu trabalho.

À Rose, por estar sempre disponível para esclarecer todas as dúvidas que surgiram ao longo da minha pós-graduação.

Aos meus amigos, que mesmo à distância, nunca deixaram de me apoiar e incentivar nos momentos mais difíceis.

Às amigas que fiz em Viçosa, obrigada por fazerem parte de minha história no Brasil.

Aos proprietários e veterinários, por permitirem a realização das coletas e contribuírem para o sucesso deste estudo.

À Universidade Federal de Viçosa e o Departamento de Veterinária, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

BARRAGAN, Yessica Lorena Guzman, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2024. **Soroprevalência, prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Lawsonia intracellularis* em equino em Minas Gerais, Brasil.** Orientador: Carlos Eduardo Real Pereira. Coorientadora: Talita Pilar Resende.

Lawsonia intracellularis é o agente etiológico da Enteropatia Proliferativa Equina (EPE), uma doença que afeta especialmente potros recém-desmamados. A EPE cursa com diarreia, cólica, febre, perda de peso, desidratação e anemia, levando a um quadro de hipoproteinemia intensa, podendo evoluir ao óbito. Embora a EPE seja reportada ocasionalmente em equinos no Brasil, sua epidemiologia ainda é desconhecida, destacando a necessidade de mais pesquisas. Objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência, soroprevalência e os fatores de riscos associados a Enteropatia Proliferativa Equina nos planteis equinos do estado de Minas Gerais. Foram coletadas 344 amostras de soro e 327 amostras de fezes de 26 planteis localizados nas mesorregiões Metropolitana de Belo Horizonte e Zona da Mata. Os equinos amostrados foram divididos em três grupos: G1- Éguas reprodutoras, G2- Potros entre 0-6 meses de idade, progênie das éguas reprodutoras e G3-Potros entre 7-24 meses de idade. As amostras de soro foram analisadas através da técnica de imunoperoxidase em monocamada de células (IPMC) para detecção de anticorpos anti-*L. intracellularis*, e a detecção direta de *L. intracellularis* nas amostras fecais foi realizada através da qPCR. Adicionalmente, foi aplicado um questionário epidemiológico em cada propriedade para identificação de fatores de risco para a EPE. Dos 344 soros analisados, 19,48% (67/344) apresentaram anticorpos específicos anti-*L. intracellularis* e 0,61% (2/327) amostras de fezes foram positivas para a presença da bactéria. O grupo G1 apresentou a maior soroprevalência (36,4%), enquanto o G3 apresentou a menor (7,69%). Dois fatores de risco foram identificados: os equinos com idade superior a três anos têm maior risco de serem soropositivos para *L. intracellularis* (OR: 4,61), assim como os equinos que estão em propriedades que também possuem suínos (OR: 10,17). Os resultados deste estudo mostram a presença de anticorpos anti-*L. intracellularis* em 69% (18/26) dos haras investigados, demonstrando uma disseminação relevante deste agente nos planteis equinos de Minas Gerais.

Palavras-chave: diarreia; enteropatia proliferativa equina; epidemiologia; ipmc; *lawsonia intracellularis*; fatores de risco; prevalência.

ABSTRACT

BARRAGAN, Yessica Lorena Guzman, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2024. **Seroprevalence, prevalence and risk factors associated with *Lawsonia intracellularis* infection in horse in Minas Gerais, Brazil.** Adviser: Carlos Eduardo Real Pereira. Co-adviser: Talita Pilar Resende.

Lawsonia intracellularis is the etiologic agent of Equine Proliferative Enteropathy (EPE), a disease that primarily affects newly weaned animals. EPE is characterized by diarrhea, colic, fever, weight loss, dehydration and anemia due to severe hypoproteinemia and can be lethal. Although EPE is occasionally reported in equines in Brazil, its epidemiology remains unknown, highlighting the need for further research. The objective of this study was to evaluate the prevalence, seroprevalence and risk factors associated with EPE in herds in the state of Minas Gerais. A total of 344 serum samples and 327 fecal samples were collected from 26 herds located in the mesoregions of Belo Horizonte Metropolitan and Zona da Mata. The sampled equines were divided into three groups: G1 - breeding mares, G2 - foals aged 0-6 months, the offspring of breeding mares and G3 - foals aged 7-24 months. Serum samples were analyzed by Immunoperoxidase Monolayer Assay (IPMA) to detect antibodies against *L. intracellularis*, and the direct detection of *L. intracellularis* in fecal samples was conducted through qPCR. Additionally, an epidemiologic questionnaire was applied at each property to identify risk factors for EPE. Of the 344-serum analyzed, 19.48% (67/344) had specific antibodies against *L. intracellularis*, and 0.61% (2/327) of the fecal samples tested positive for the presence of the bacterium. The group G1 showed the highest seroprevalence (36.4%), while G3 showed the lowest (7.69%). Two risk factors were identified: horses older than three years are at higher risk of being seropositive for *L. intracellularis* (OR: 4.61), and horses on properties that also house pigs are at significantly higher risk (OR: 10.17). The results of this study show the presence of antibodies against *L. intracellularis* in 69% (18/26) of the herds studied, indicating a significant spread of this agent in equine population in Minas Gerais.

Keywords: diarrhea; epidemiology; equine proliferative enteropathy; ipmc; lawsonia intracellularis; risk factors; prevalence.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAPP	American Association Equine Practitioners
AEC	Cromógeno (3-amino-9-etil-carbazole)
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EP	Enteropatia Proliferativa
EPE	Enteropatia Proliferativa Equina
FAO	Organização para a Alimentação e Agricultura
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IPMC	Imunoperoxidase em monocamada de Células
MBH	Zona Metropolitana de Belo Horizonte
MG	Minas Gerais
ONU	Organização das Nações Unidas
PCR	Reação em cadeia da polimerase
UFV	Universidade Federal de Viçosa
ZM	Zona da Mata

SUMÁRIO

1. Introdução	8
2. Objetivos	9
2.1 Objetivo Geral	9
2.2 Objetivos Específicos.....	9
3. Revisão De Literatura.....	10
3.1 Etiologia	10
3.2 Sinais Clínicas	12
3.3. Diagnostico	13
3.4 Epidemiologia	14
3.5 Tratamento e prevenção.....	17
4. Materiais e Métodos	18
4.1 Área de estudo.....	18
4.2 Tamanho das amostras	19
4.3 Coleta e processamento das amostras.....	20
4.3 Técnica Sorológica.....	21
4.4 Extração de DNA e qPCR.....	22
4.5 Análise Estatística.....	23
5. Resultados	23
5.1 Fatores de risco associados a infecção por <i>L. intracellularis</i>	27
6. Discussão.....	27
7. Conclusão	33
REFERÊNCIAS.....	34
APENDICE 1	43

1. Introdução

A equinocultura é uma atividade econômica e cultural de grande importância no Brasil, envolvendo desde a criação de diferentes raças até seu uso em eventos esportivos, trabalho e lazer. As raças que mais se destacam no cenário nacional são Mangalarga Marchador, reconhecida como a raça nacional do Brasil (ABCCMM, 2015), além do Nordestino, Quarto Milha, Crioula e Campolina (Lima e Cintra, 2016). O setor equino desempenha um papel importante no agronegócio brasileiro, movimentando R\$ 16,15 bilhões por ano e empregando cerca de três milhões de pessoas no país (Lima e Cintra, 2016). De acordo com as estatísticas reportadas pela Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO) em 2021, o Brasil tem 5,8 milhões de cavalos, ocupando o quarto lugar no ranking mundial, atrás apenas dos EUA, México e China (ONU, 2024). Em âmbito nacional, Minas Gerais lidera com a maior população de cavalos, totalizando 804.904 cabeças, seguido pelo Rio Grande do Sul e Bahia (IBGE, 202).

Entre as principais preocupações dos criadores de equinos estão as doenças entéricas, que podem afetar seriamente a saúde e o desenvolvimento dos animais, especialmente os jovens. Dentre essas doenças, encontra-se a EPE que foi relatada em todo o mundo e é causada pela bactéria *Lawsonia intracellularis* (McClintock e Collins 2004; Kranenburg et al., 2011; Steinman et al., 2014; Loublier et al., 2020; Caleffo et al., 2021; Souza et al., 2023; Metiner et al., 2023). A EPE afeta especialmente animais recém-desmamados entre 3 e 8 meses de idade (Frazer et al., 2007) e é clinicamente caracterizada por diarreia, febre, apatia, hiporexia, perda de peso, desidratação, edema de membros e cabeça, além do desenvolvimento de síndrome de má absorção e hipoproteinemia (Lavoie et al., 2000).

O principal método de tratamento para surtos de EPE é baseado na terapia antimicrobiana (Sampieri et al., 2014). O uso eficaz de antibiótico pode reduzir o impacto da doença, contudo a escolha do princípio ativo adequado é um ponto crítico devido as características intracelulares da bactéria e a impossibilidade de seu cultivo em meios convencionais, o que torna a avaliação da susceptibilidade aos diferentes princípios ativos um desafio (Pereira et al., 2019). A *L. intracellularis* pode infectar

outras espécies de animais, como suínos, cuja infecção é amplamente estudada devido aos importantes impactos econômico-sanitários nessa espécie. Casos da EPE tem sido reportados em países na América do Norte (Schumacher et al., 2000; Lavoie et al., 2000; Bihl, 2003), Europa (Loublier et al., 2020), Ásia (Oh Yeonsu et al., 2019; Niwa et al., 2022) e no Brasil (Caleffo et al., 2021; Souza et al., 2023). Nos últimos anos, tem-se observado um aumento no número de casos da EPE, refletindo o crescente interesse pela doença. Considerando que sua epidemiologia e distribuição ainda é pouco compreendida, especialmente no Brasil. O objetivo deste estudo transversal foi avaliar a prevalência, soroprevalência e fatores de riscos associados a Enteropatia Proliferativa Equina nos plantéis equinos do estado de Minas Gerais.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a prevalência, soroprevalência e os fatores de risco da Enteropatia Proliferativa Equina nos plantéis do estado de Minas Gerais.

2.2 Objetivos Específicos

- Estabelecer a prevalência e soroprevalência da Enteropatia Proliferativa Equina intra-rebanho e inter-rebanho do estado de Minas Gerais.
- Determinar a prevalência e soroprevalência dos plantéis de equino do estado de Minas Gerais.
- Determinar os fatores de risco associados a enteropatia proliferativa equina nos rebanhos do estado de Minas Gerais.

3. Revisão de literatura

3.1 Etiologia

A Enteropatia Proliferativa Equina é causada pela *L. intracellularis* (Figura 1), uma bactéria intracelular obrigatória, microaerófila, móvel, curva, Gram-negativa, não formadora de esporos, que mede entre 1,25 e 1,75 μM de comprimento e 0,25 a 0,43 μM de largura, e possui um envoltório externo trilamelar (McOrist S *et al.*, 1995). De acordo com a análise filogenética das sequências de 16S rDNA, o gênero *Lawsonia* pertence à família *Desulfovibrionaceae* e inclui apenas uma espécie (McOrist e Gebhart, 2005). A partir do cultivo laboratorial de *L. intracellularis* foi demonstrada a presença de um flagelo longo, único e unipolar, que possivelmente auxilia passagem bacteriana pela barreira de muco na superfície intestinal, facilitando sua fixação e internalização nas células epiteliais intestinais (Lawson e Gebhart 2000). A cultura dessa bactéria exige condições específicas, que envolvem uma atmosfera composta por 82,2% de nitrogênio, 8,8% de dióxido de carbono e 8% de oxigênio e o cultivo em células permissivas, para simular as condições do ambiente intestinal (Lawson *et al.*, 1993; Lawson e Gebhart 2000).



Fonte: Wattanaphansak, *et al.*, 2010

Figura 1. *L. intracellularis* em imagem de microscopia eletrônica.

A *L. intracellularis* é reconhecida como o agente causal de diarreia em diversas espécies de animais. As principais espécies afetadas são os suínos, hamsters, e os equinos (Lawson e Gebhart 2000). Nos suínos, em particular, a EP tem um grande

impacto econômico mundial, razão pela qual sua epidemiologia é mais compreendida. Embora os isolados de *L. intracellularis* sejam morfológica e geneticamente muito similares independente da espécie de origem (Vannucci e Gebhart., 2014; Bengysson et al., 2020) a espécie-especificidade apresenta características particulares (Lawson e Gebhart, 2000). Estudos demonstraram que coelhos são suscetíveis aos isolados de *L. intracellularis* provenientes de equinos, desenvolvendo lesões típicas e repostas imunológicas específicas para a infecção, mas não apresentam a mesma susceptibilidade aos isolados de suínos. Por outro lado, hamsters demonstram susceptibilidade aos isolados da bactéria provenientes suínos, mas não desenvolvem a doença quando são expostos a isolados de equinos. Esses resultados reforçam a especificidade de espécie dos isolados de *L. intracellularis* (Sampieri et al., 2013). Em um estudo que avaliou a susceptibilidade de suínos e equinos à infecção por *L. intracellularis*, ambas espécies foram expostas a isolado de equinos e suínos, observou-se que os sinais clínicos, os períodos de eliminação bacteriana e as respostas imunológicas foram mais fortes quando os animais foram infectados por cepas específicas de sua própria espécie (Vannucci et al., 2012).

A transmissão da *L. intracellularis* ocorre por contato direto, através da ingestão de material fecal contaminado proveniente de animais que atuam como hospedeiros e disseminadores, incluindo ratos, coelhos, cães, gatos, suínos, além de outros equinos adultos (Lawson e Gebhart, 2000; Pusterla et al., 2008; Guimarães-ladeira et al., 2009). Estudos experimentais em suínos inoculados com *L. intracellularis*, revelaram que a bactéria pode ser detectada dentro das células epiteliais nas pontas das vilosidades intestinais apenas 12 horas após a infecção, indicando a colonização precoce de várias células epiteliais (Boutrup et al., 2010). Os sinais clínicos da EP em suínos podem surgir entre sete e 10 dias após da inoculação (Guedes et al., 2002a), com detecção de bactérias nas fezes a partir de dois a três dias (Guedes, 2002b) e persistir por até 12 semanas após inoculação (Guedes et al., 2002b, Guedes e Gebhart, 2003a). Em contraste, um estudo com potros infectados experimentalmente mostrou que a eliminação fecal da bactéria começou entre 12 e 18 dias após a infecção, com uma duração de eliminação variando entre sete e 21 dias (Pusterla et al., 2010; Pusterla et al., 2012). A bactéria pode sobreviver em condições ambientais pelo menos duas semanas a temperaturas entre 5-15°C (Collins et al., 2000).

As alterações microscópicas induzidas pela *L. intracellularis* são hiperplasia das criptas e, conseqüentemente, no espessamento da mucosa intestinal e abscessos de criptas, embora as lesões proliferativas sejam mais evidentes que as inflamatórias (Lawson et al., 1993). Esse processo leva a uma alteração da diferenciação celular nas criptas, resultando na diminuição de células caliciformes, células enteroendocrinas e enterócitos absorptivos (Huan et al., 2017). Essas alterações no epitélio estão intimamente associadas à infecção por *L. intracellularis* (Lawson e Gebhart, 2000), no entanto, os mecanismos que promovem essa hiperplasia ainda não estão claros.

3.2 Sinais Clínicos

A Enteropatia Proliferativa Equina afeta principalmente potros desmamados entre três e oito meses de idade (Frazer et al., 2007), período em que ocorre uma diminuição na concentração de anticorpos maternos. Fatores como o estresse associado ao manejo, à vacinação e à administração de vermífugos contribuem para o aumento da incidência nessa faixa etária (Frazer, 2008). No entanto, animais adultos também podem desenvolver a doença, apresentando manifestações clínicas semelhantes aos dos potros infectados (Pusterla e Gebhart., 2013).

Os sinais clínicos mais comuns da EPE são diarreia, cólica, letargia, anorexia, febre, perda de peso, desidratação, anemia e edema devido à hipoproteinemia. (Atherton e McKenzie III, 2006; Pusterla e Gebhart, 2009). A hipoproteinemia, frequentemente observada, pode ser atribuída à hipoalbuminemia, com níveis de albumina sérica inferiores 20 g/L e a proteína inferior a 50 g/L (Pusterla e Gebhart, 2013; Pusterla e Gebhart, 2009) devido à síndrome de má absorção e à diarreia.

Um estudo retrospectivo com 57 equinos afetados pela EPE revelou que 81% dos animais apresentaram edema ventral, 31% apresentam letargia e 26% apresentam diarreia, sendo que hipoalbuminemia estava presente em todos os animais infectados (Frazer, 2008). Em outro estudo, Atherton e McKenzie III (2006) avaliaram sete equinos jovens com sinais clínicos compatíveis com EPE. Destes, cinco potros apresentaram aumento de fibrinogênio e leucocitose no hemograma, e seis potros apresentaram hipoproteinemia.

Os sinais clínicos da EPE podem ser facilmente confundidos com outros problemas gastrointestinais, como infecção por rotavírus e coronavírus, obstrução intestinal, úlceras e infecções bacterianas entéricas, como a salmonelose, clostridiose e rodococose (Pusterela e Gebhart, 2009; Pusterela e Gebhart, 2013).

3.3. Diagnóstico

O diagnóstico *ante-mortem* da EPE pode ser desafiador. A apresentação dos sinais clínicos descritos anteriormente, a idade dos animais, a diminuição da concentração proteica sérica (hipoproteinemia) o espessamento da parede do intestino delgado observado por ultrassonografia e a presença de líquido não-inflamatório no abdômen são as principais manifestações para o diagnóstico presuntivo (Macêdo et al., 2008). As técnicas utilizadas para diagnóstico de *L. intracellularis* em equinos são as mesmas que em suínos, ou seja, sorologia e PCR.

Os testes sorológicos são usados para detectar anticorpos IgG séricos anti-*L. intracellularis*, permitindo a avaliação de exposição previa à *L. intracellularis*. Existem três tipos de testes sorológicos desenvolvidos para a detecção de anticorpos, são eles: imunofluorescência de anticorpos indiretos (IFA) (Guedes e Gebhart, 2003b), o ensaio Imunoperoxidase em monocamadas de células (IPMC) (Guedes et al., 2002a) e o ELISA (Jacobson et al., 2011). Estes testes têm demonstrado alta sensibilidade para a detecção indireta (de anticorpos) em suínos. Embora tradicionalmente a sorologia seja uma técnica utilizada para verificar uma exposição previa a algum antígeno, no caso da EPE, um diagnóstico sorológico positivo com títulos anticorpos altos é indicativo de infecção recente por *L. intracellularis* e auxilia na determinação do diagnóstico definitivo, especialmente quando *L. intracellularis* não estão sendo eliminadas nas fezes para a detecção do PCR (Guedes, 2004).

A técnica PCR detecta especificamente a presença de DNA da *L. intracellularis* em amostras fecais, permitindo determinar se o animal está eliminando a bactéria. Esse teste é amplamente empregado no diagnóstico da EP, devido a sua alta especificidade e rápida detecção. Entretanto, a PCR é limitada por sua sensibilidade, já que não detecta baixas concentrações de bactéria em amostras fecais o que pode levar a resultado de falso-negativo (Pedersen et al., 2010). Além disso, o teste de PCR de

fezes pode ser prejudicado por fatores inibitórios que podem estar presentes nas amostras fecais e que podem impedir a amplificação DNA (Frazer, 2008). Há ainda a possibilidade de eliminação fecal intermitente da bactéria (Guedes e Gebhart, 2003a), que pode prejudicar a interpretação do resultado. A PCR quantitativa (qPCR) também fornece informações quantitativas sobre a carga bacteriana.

Para o diagnóstico *post-mortem* da EPE as lesões macro e microscópicas devem ser associadas a técnicas complementares, a citar: a coloração histológica de Warthin Starry permite detectar bactéria com afinidade tintorial pelo corante no citoplasma dos enterócitos, associada a localização à morfologia da bactéria torna a técnica útil para definição diagnóstica. Técnicas específicas, como hibridização *in situ* fluorescente (FISH) e imuno-histoquímica (IHQ) podem ser utilizadas para detecção molecular ou imunomarcção, da bactéria respectivamente. Além disso a PCR também pode ser utilizada na avaliação *post-mortem* com uma amostragem que aumenta sua sensibilidade ao utilizar fragmentos intestinais de regiões intestinais com lesões suspeitas de EPE.

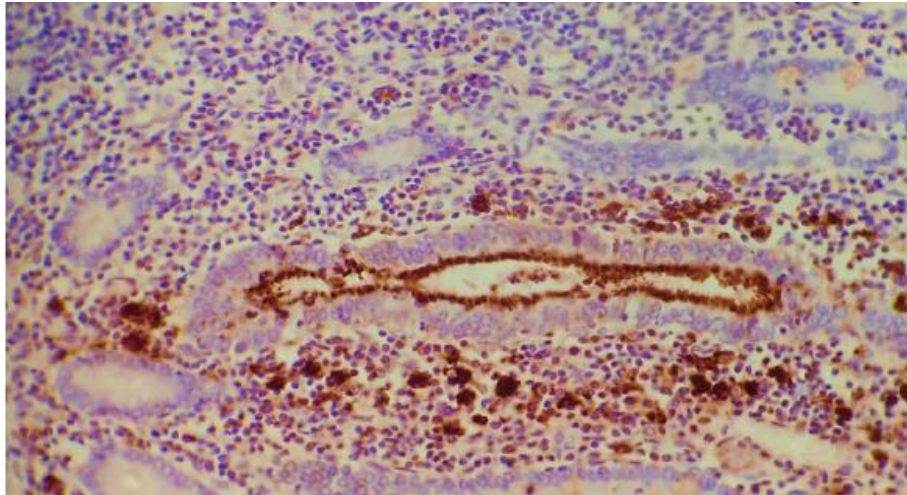
3.4 Epidemiologia

A EPE foi relatada pela primeira vez em 1982 por Duhamel e Wheeldon (Duhamel e Wheeldon, 1982) mas foi somente em 1996 que a *L. intracellularis* foi identificada como agente etiológico da doença, por meio de imuno-histoquímica e microscopia eletrônica (Williams et al., 1996). Desde então, a doença tem sido notificada em equinos de todos os continentes.

Na Bélgica, a presença de *L. intracellularis* em equinos foi investigada em animais clinicamente saudáveis de todas as idades. O diagnóstico foi realizado por meio de bloqueio do ensaio imunoenzimático (bELISA), e foram testadas 356 amostras, das quais 98,8% foram positivas, 2% negativas e 2% duvidosas, o que indica que a *L. intracellularis* é um patógeno frequente em equinos na Bélgica (Loublier et al., 2020). Na Holanda, foi avaliada a soroprevalência de *L. intracellularis* com amostras foram coletadas antes e depois do desmame dos potros, além de amostras de potros de um ano e animais adultos. A soroprevalência em potros aumentou significativamente de 15% antes do desmame para 23% após o desmame. Em animais de um ano a

soroprevalência foi de 89% e em animais com mais de dois anos foi de 99% (Kranenburg et al.,2011).

No Brasil foram realizados estudos para avaliar a soroprevalência de *L. intracellularis* em cavalos assintomáticos nos estados de Paraná e Rio Grande do Sul utilizando a técnica imunoperoxidase em monocamadas de células (IPMC). No Paraná foram analisadas 162 amostras, sendo 23 de animais com menos de um ano de idade e 139 de animais com idades entre um e cinco anos. Considerando as 162 amostras testadas, 5,55% (9/162) apresentaram anticorpos específicos anti-*L. intracellularis* e 4,32% (7/162) das amostras de fezes foram positivas para a presença da bactéria (Caleffo et al., 2021). No Rio Grande do Sul, foram avaliadas amostras provenientes de seis haras de cavalos da raça Puro Sangue Inglês e os resultados mostraram que 51% dos equinos eram soropositivos, indicando uma alta soroprevalência da bactéria. O grupo com a maior porcentagem de detecção foi de éguas reprodutoras (86,8%) e o grupo com a menor porcentagem de detecção (5,2%) foi o de potros de zero a seis meses de idade (Souza et al., 2023). Recentemente, foi feito no Hospital Veterinário da UFV, o primeiro diagnóstico de EPE na instituição, em um potro com perda de peso, hipoproteinemia e edema generalizado. A necropsia mostrou espessamento da parede intestinal e na histopatologia foi evidenciada a proliferação de células epiteliais intestinais, com subsequente confirmação da presença da bactéria pela imunohistoquímica (em colaboração com a UFMG) utilizando anticorpos específicos para *L. intracellularis* (Figura 2)



Fonte: Colaboração dos setores de Patologia Veterinária UFV-UFMG

Figura 2. *Intestino delgado, imuno-histoquímica. Presença de antígenos bacterianos no citoplasma de células epiteliais das criptas hiperplásicas, evidenciados pela coloração avermelhada (AEC).*

As informações sobre os fatores de risco associados a infecção por *L. intracellularis* em equinos são escassos. Vários animais selvagens e domésticos, incluindo gatos, coelhos, gambás, gambás e coiotes, que vivem em torno dos planteis equinos com casos de EPE diagnosticados podem excretar *L. intracellularis* (Pusterla *et al.*, 2008). Outro estudo, que analisou amostras de fezes e de soro de animais domésticos e selvagens capturados em propriedades com casos confirmados de EPE, identificou que ratos, coelhos e gatos podem ser hospedeiros de *L. intracellularis* (Pusterla *et al.*, 2012).

As práticas de manejo também podem ser um fator de risco para a EPE. Por exemplo, alimentar os animais com feno e grãos diretamente no chão permite que o alimento seja contaminado com fezes de hospedeiros reservatórios (Pusterla *et al.*, 2009). Além disso, um estudo demonstrou que cavalos mantidos em estábulos ou baias tem um risco maior de desenvolver a doença em comparação com aqueles mantidos em pastagem (Steinman *et al.*, 2014).

3.5 Tratamento e prevenção

É crucial iniciar o tratamento dos equinos afetados pela EP antes que as lesões se agravem e provoquem perda de peso e de proteínas séricas. O tratamento da EPE consiste em terapia antimicrobiana, cristaloides intravenosos para corrigir a desidratação e plasma para repor a perda de proteínas (Bohlin et al., 2019). Além disso, são recomendados protetores de mucosa e medicamentos anti-inflamatórios. (AAEP, 2023).

Como a *L. intracellularis* é uma bactéria intracelular, o antibiótico deve ser capaz de penetrar a membrana celular do hospedeiro (Bihl, 2003). O tratamento de escolha para a EPE geralmente envolve a combinação de eritromicina combinado com rifampicina (Bihl, 2003; Schumacher et al., 2000). Em um estudo realizado no Canadá, essa combinação foi administrada a equinos com EPE, resultando em rápida melhora da condição geral e na resolução dos sinais clínicos (Lavoie et al., 2000). Recentemente, um estudo avaliou a susceptibilidade *in vitro* de *L. intracellularis* a diferentes princípios ativos, mostrando que rifampicina e claritromicina foram os antibióticos mais eficazes, enquanto a eritromicina apresentou uma atividade intermediária a alta (Pereira et al., 2019).

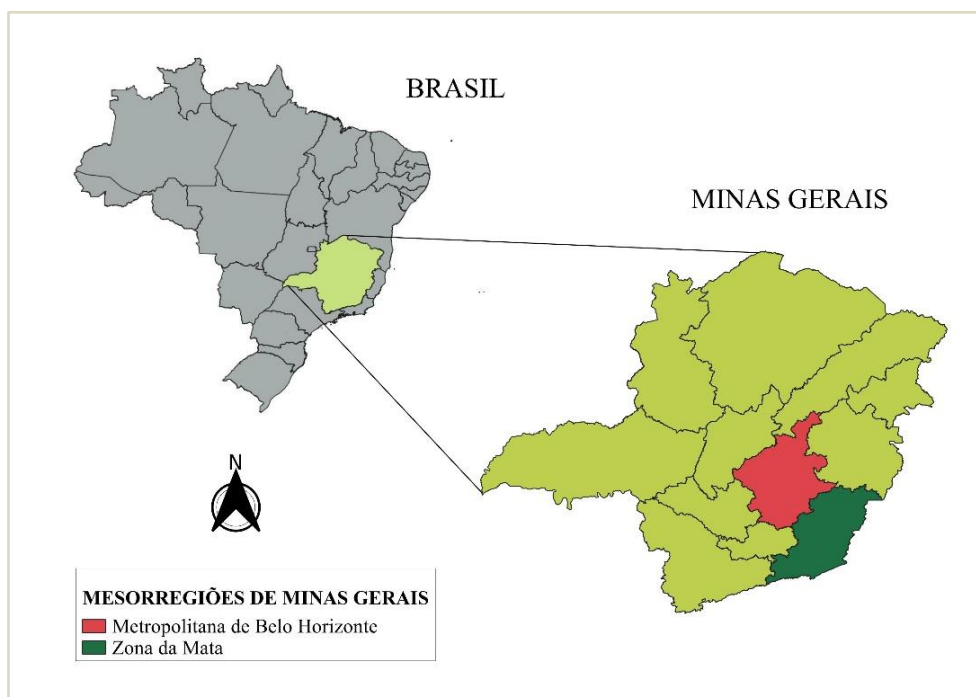
Apesar da existência de duas vacinas comerciais para prevenção e controle da EP em suínos, não existem vacinas comercialmente disponíveis para equinos. Nogradi e seus colaboradores (2012) testaram a eficácia de uma vacina suína constituída por cepa viva avirulenta em equinos, administrando 30 mL da vacina por via intrarretal em duas aplicações com um intervalo de 30 dias entre elas. Os resultados mostraram uma redução numérica na prevalência da doença no grupo de equinos vacinados em relação ao grupo não vacinado, embora a diferença não tenha sido significativamente diferente entre os grupos. Por outro lado, Pusterla e colaboradores (2012) também avaliaram a eficácia da vacina comercial viva atenuada suína por via intrarretal em equinos e observaram uma proteção contra a EPE em potros desmamados saudáveis, além de uma redução de 50% na contaminação ambiental e na quantidade de potros que eliminam o organismo após a exposição.

4. Materiais e Métodos

Foi realizado um estudo epidemiológico transversal para estimar a prevalência, soroprevalência e fatores de risco associados à Enteropatia Proliferativa Equina no estado de Minas Gerais. O estudo foi feito após apreciação e aprovação do projeto pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa, protocolo número 26/2023, aprovado o 03 agosto de 2023 e seguindo as Normas de Conduta para o Uso de Animais no Ensino, Pesquisa e Extensão do Departamento de Veterinária (DVT) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

4.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no estado de Minas Gerais, que está localizado no sudeste do Brasil e tem uma área de 586.522,1 km² (Figura 3). Esse estudo foi desenvolvido em 17 municípios (Tabela 1) distribuídos entre duas mesorregiões do estado de Minas Gerais: a Zona da Mata Mineira e a Região Metropolitana de Belo Horizonte.



Nota: Mapa do Brasil destacando o estado de Minas Gerais e as duas mesorregiões de origem das propriedades criadoras de equinos incluídas no estudo

Figura 3. Localização das áreas do estudo, no estado de Minas Gerais.

Mesorregião	Cidades
Zona da Mata	Coimbra, Ervália, Ponte Nova, Rodeio, Silveirânia, Teixeira, Ubá, Viçosa.
Metropolitana de Belo Horizonte	Belo Horizonte, Confins, Florestal, Inhaúma, Itaúna, Nova Lima, Para de Minas, Pedro Leopoldo, Resende Costa.

Tabela 1. *Cidades Mineiras onde foram coletadas as amostras.*

Para a coleta das amostras, foram selecionados 26 planteis equinos por conveniência. Nos planteis com um número de equinos superior a 100, foi determinada uma porcentagem de animais a serem amostrados (15%), enquanto nos planteis menores, todos os animais das faixas etárias relevantes para o projeto foram amostrados. O objetivo da pesquisa foi explicado aos proprietários antes das coletas, seguido da assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido. Foi aplicado um questionário epidemiológico composto por 33 perguntas (APÊNDICE 1), incluindo questões dicotômicas, de múltipla escolha e abertas, cujo objetivo era identificar os possíveis fatores de risco relacionados à entrada e disseminação da *L. Intracellularis* nos planteis. Durante a coleta, também foram registradas variáveis individuais, como raça, sexo, e idade dos animais.

4.2 Tamanho amostral

O cálculo do tamanho amostral foi realizado com o objetivo de comparar a prevalência de *L. intracellularis* entre três grupos de equinos: G1-égua reprodutoras, G2-potros de 0-6 meses e G3-potros de 7 a 24 meses idade. A hipótese nula assumida foi a de que não existem diferenças significativas na prevalência de infecção entre os três grupos ($H_0: p_1 = p_2 = p_3$).

Para o cálculo do tamanho amostral foi usada a fórmula para comparação de duas proporções, tomando como referência as prevalências reportadas em uma propriedade do estudo de soroprevalência de *L. intracellularis* realizado em equinos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil (De Souza et al, 2023). Esse estudo determinou uma soroprevalência de 80% em animais adultos (p_1) e 35,7% em animais de 2 anos (p_2). O tamanho da amostra foi determinado considerando um nível de confiança de 99% e um poder estatístico de 99%.

$$n = \frac{[Z_{\alpha} \sqrt{(2pq)} - Z_{\beta} \sqrt{p_1q_1 + p_2q_2}]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Nota 1. Fórmula para calcular o tamanho de amostra para comparar duas proporções (P_1 e P_2), considerando o nível de significância (Z_{α}), o poder (Z_{β}) e as proporções esperadas. Observação: Onde $p=(p_1+p_2)/2$ e $q=1-p$

O número mínimo de indivíduos necessário para cada grupo foi de 59 indivíduos. Para garantir a validade das análises, o tamanho amostral foi aumentado para um mínimo de 80 animais, levando em conta que os indivíduos dentro dos grupos não são totalmente independentes. Esse cálculo garantiu que o estudo teria poder suficiente para detectar diferenças entre proporções com alta confiança e precisão.

O método de amostragem usado foi por conglomerados, na qual selecionamos uma amostra de unidades a partir de grupos, invés de selecionar unidades individuais de forma independente.

4.3 Coleta e processamento das amostras

Entre janeiro e abril de 2024 foram coletadas 344 amostras de sangue e 327 amostras de fezes de equinos provenientes de 26 propriedades localizadas nas regiões da Zona da Mata e Metropolitana de Belo Horizonte, no estado de Minas Gerais. Os animais foram divididos em três grupos (Tabela 2)

Nos grupos G1 e G3, as amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal utilizando luvas de palpação e armazenadas em frascos plásticos. No G2, as fezes foram coletadas por swab retal e armazenadas em microtubo de 0,5 mL e congelados a -20°C . O sangue foi coletado da veia jugular utilizando o sistema Vacutainer com tubos de coleta de 10 mL sem anticoagulante. As amostras coletadas e identificadas foram transportadas em caixas de isopor com gelo para o setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. O soro foi separado da porção sólida por centrifugação a 3000 rpm por 10 min e o soro obtido foi colocado em microtubo de 0,5 mL e congelado a -20°C até a realização da IPMC.

Grupos	Sangue (n)	Fezes (n)
G1 (Éguas reprodutoras)	118	114
G2 (Potros de 0 a 6 meses)	135	130
G3 (Potros de 7 a 24 meses)	91	83
Total	344	327

Tabela 2. Quantidade das amostras de sangue e fezes por grupos de equinos.

4.3 Técnica Sorológica

A sorologia foi realizada pelo laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, através da técnica de imunoperoxidase em monocamada de células (IPMC), padronizada por Guedes et al, (2002a) para detecção de anticorpos IgG anti-*L. intracellularis* em amostras de soro.

Nesta técnica, foram utilizadas placas estéreis de 96 poços contendo Células McCoy (fibroblastos murinos, ATCC#CRL-1696), com um dia de passagem de 15-20% de confluência. O isolado de *L. intracellularis* PHE/MN1-00, obtido de suínos (Guedes e Gebhart, 2003b), foi preparado em meio de cultura Dulbecco's modified Eagle médium (DMEM, Gibco Invitrogen Corporation, 11965-092), suplementado com 1 % de L-glutamina (Gibco Invitrogen Corporation, 25030-081) e 5 % de soro fetal bovino (SFB, Sigma Chemical). Essa preparação foi adicionada em cada poço da placa com as células McCoy. As placas foram incubadas a 37°C em ambiente controlado com concentrações de 8% de O₂, 8,8% de CO₂ e 83,2%. Após seis dias de incubação, as células infectadas foram fixadas com solução acetona e metanol (1:1) e armazenadas a 20°C até sua utilização (Resende, 2015a).

Posteriormente, foram pipetados 100 microlitros de amostra de soro equino diluída a 1:60 (solução de leite em pó 5% e solução tamponada de fosfato com tween – PBS tween - 0,05%), em cada poço da placa contendo a monocamada de células previamente infectada com *L. intracellularis*. A placa foi incubada em câmara úmida por 30 minutos a 37 °C. Após a incubação a placa foi lavada 4 vezes com PBS tween 0,05%. Em seguida, 95 microlitros de anticorpo secundário anti-IgG equino (Sigma-Aldrich, A9292), previamente diluídos 1:400 em PBS Tween 0,05% e 5% de leite em pó, foram

adicionados em cada poço e incubados em câmara úmida por 45 minutos a 37°C. Após essa incubação, a placa foi lavada 4 vezes com PBS tween 0,05%. Finalmente, 100 microlitros de cromógeno AEC ([3-amino-9-etil-carbazole]; Sigma-Biochemical Aldrich) diluído em peróxido de hidrogênio foram adicionados em cada poço da placa e incubados em temperatura ambiente em câmara úmida por 20 minutos. A placa foi lavada com água destilada, secada e examinada em microscópio invertido.

As placas foram examinadas e as amostras foram consideradas positivas quando as bactérias foram marcadas em vermelhas no citoplasma das células McCoy, o que ocorre quando o anticorpo se liga as bactérias na placa.

4.4 Extração de DNA e qPCR

Para a extração de DNA nas fezes, foi usado o kit comercial Wizard® SV Genomic DNA Purification System (Promega), com uma adaptação para amostras fecais, na qual foram adicionados 20 µL de lisozima para facilitar a degradação da parede celular bacteriana. As etapas de purificação foram realizadas de acordo com as instruções do fabricante.

A amplificação de PCR em tempo real foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. Os primers usados foram complementares a região específica do genoma de PHE/MN1-00 da *L. intracellularis* com a sequência de nucleotídeos (GenBank acesso no. AM180252; oligonucleotídeos: primer forward AATTTGTTGTGGATTGTATTCAAGGA e primer reverse CTTTCTCATGTCCCATAAGCTCAA) (Pusterla, et al.,2008). A reação de PCR foi realizada em um volume total de 20 µL, contendo 10 µL qPCR Green Master low ROX, 0,4 (10nM) de cada primer, 2 µL do DNA extraído e 7,2 µL de água livre de DNA. O controle negativo foi água pura, e o controle positivo foi uma amostra de DNA de *L. intracellularis*. A reação foi amplificada em um termociclador/fluorômetro combinado (BIO-RAD touch Real-Time PCR detection system). Os parâmetros de ciclagem foram: 95 °C por 5 min, 39 ciclos de 95 °C por 15 seg., 60 °C por 1 min e uma análise de curva de dissociação (melt curve analysis) com aumento gradual da temperatura de 65 °C a 88 °C.

4.5 Análise Estatística

A prevalência e a soroprevalência foram determinadas pela divisão do número de animais positivos pelo número de animais amostrados, com um intervalo de confiança (IC) de 95%. Os dados dos questionários foram sistematizados e armazenados em bancos de dados. Foi realizado uma análise descritiva para determinar as frequências e porcentagens das variáveis individuais como sexo, idade, raça para descrever a população amostrada.

Posteriormente foi realizada a análise dos fatores de risco associados à soropositividade da *L. intracellularis* com base nas respostas obtidas para o questionário. Para avaliar a relação entre as variáveis categóricas e os fatores de risco foi usado a correlação de Spearman. Após essas análises foi aplicado o modelo de regressão de efeito mistos (melogit) incluindo as variáveis estatisticamente significativas. Foi considerado as propriedades como um efeito aleatório devido à dependência entre animais da mesma propriedade. As razões de chance (OR) foram calculadas para cada variável independente, com um IC de 95% e o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. As análises estatísticas foram realizadas no Software Stata (versão 18.0, 2023).

5. Resultados

Um total de 344 amostras de soro e 327 amostras de fezes foram coletadas em 26 plantéis de equinos. Entre os equinos amostrados, 70,06% eram fêmeas, sendo 84,18% da raça Mangalarga Marchador, 8% Campolina, 5% Quarto de Milha e o 3% à raça Brasileiro de Hipismo. Quanto ao tamanho dos plantéis, 42,31% tinham uma tropa de 50 a 100 animais, 34,62 % tinham entre 11 e 50 animais e o 23% tinham tropas de mais de 100 animais. Em relação ao manejo, 57,69 % das propriedades utilizavam um sistema de criação semi-intensivo, 30,77% um sistema extensivo e 11,54% um sistema intensivo. A maioria das propriedades tinha como objetivo principal a criação voltada para reprodução e esporte. Além disso, 25 propriedades relataram contar com assistência veterinária frequente, e 17 informaram a ocorrência de casos de diarreia nos animais nos últimos seis meses.

Das 327 amostras de fezes analisadas, apenas dois animais foram positivos para a detecção de DNA de *L. intracellularis*, resultando em uma prevalência na escala animal de 0,61% (IC 0,07-2,19%), enquanto a prevalência por rebanho foi de 7,6% (IC 0,9-25%), uma vez que os animais eram provenientes de propriedades distintas. Destes dois animais positivos, ambos eram fêmeas, mas um pertencia ao grupo G3 (potros entre 7 e 24 meses de idade) o outro ao grupo G1 (éguas reprodutoras).

Na sorologia foram analisadas 344 amostras de 26 planteis, das quais 67 animais foram positivos para detecção de anticorpos IgG anti-*L. intracellularis*, a soroprevalência na escala animal foi de 19,48% (IC 15,4-24%) e enquanto por rebanho foi de 69% (IC 48,21-85,67%) (Tabela 3)

Propriedade	N° de animais amostrados	N° de animais positivos	Mesorregião	Soroprevalência (%)	IC 95%
1	7	1	ZM	14,29	0,36-57%
2	32	9	ZM	28,13	13,7-46,7%
3	2	0	ZM	0,00	00-00
4	27	8	ZM	29,63	13,7-50,1%
5	12	5	ZM	41,67	15,1-72,3%
6	5	1	ZM	20,00	0,51-71,6%
7	26	7	MBH	26,92	11,5-47,7%
8	19	0	MBH	0,00	00-00
9	25	4	ZM	16,00	4,5-36%
10	6	3	ZM	50,00	11,8-88,1%
11	18	7	ZM	38,89	17,3-64,2%
12	15	3	ZM	20,00	4,3-48%
13	12	2	ZM	16,67	2-48%
14	15	1	MBH	6,67	0,17-31,9%
15	15	0	MBH	0,00	00-00
16	4	0	MBH	0,00	00-00
17	6	0	MBH	0,00	00-00
18	7	2	MBH	28,57	3,6-70%
19	9	0	ZM	0,00	00-00
20	13	2	ZM	15,38	1,9-45,4%
21	8	1	ZM	12,50	0,3-52%
22	14	3	MBH	21,43	4,6-50,8%
23	14	6	MBH	42,86	17,6-71,14%
24	6	0	MBH	0,00	00-00
25	10	0	MBH	0,00	00-00

26	17	2	MBH	11,76	1,46-36,4
Total	344	67		19,48	15-24%

Nota: ZM: Zona da Mata; MBG: Metropolitana de Belo Horizonte

Tabela 3. Soroprevalência de *IgG anti-L. intracellulares* em 26 planteis de equinos no estado de Minas Gerais, Brasi, detectada pela técnica de Imunoperoxidase em monocamada de células.

O grupo com maior soroprevalência foi o de éguas reprodutoras (G1) com 36,4% (IC 27,7-45,8%), seguido pelo grupo dos potros de 0-6 meses de idade (G2) em que a soroprevalência foi de 12,59% (IC 7,5-19%). O grupo com menor soroprevalência foi o de potros de 7-24 meses de idade (G3) com 7,69% (IC 2,2-13,1%) (Figura 4).

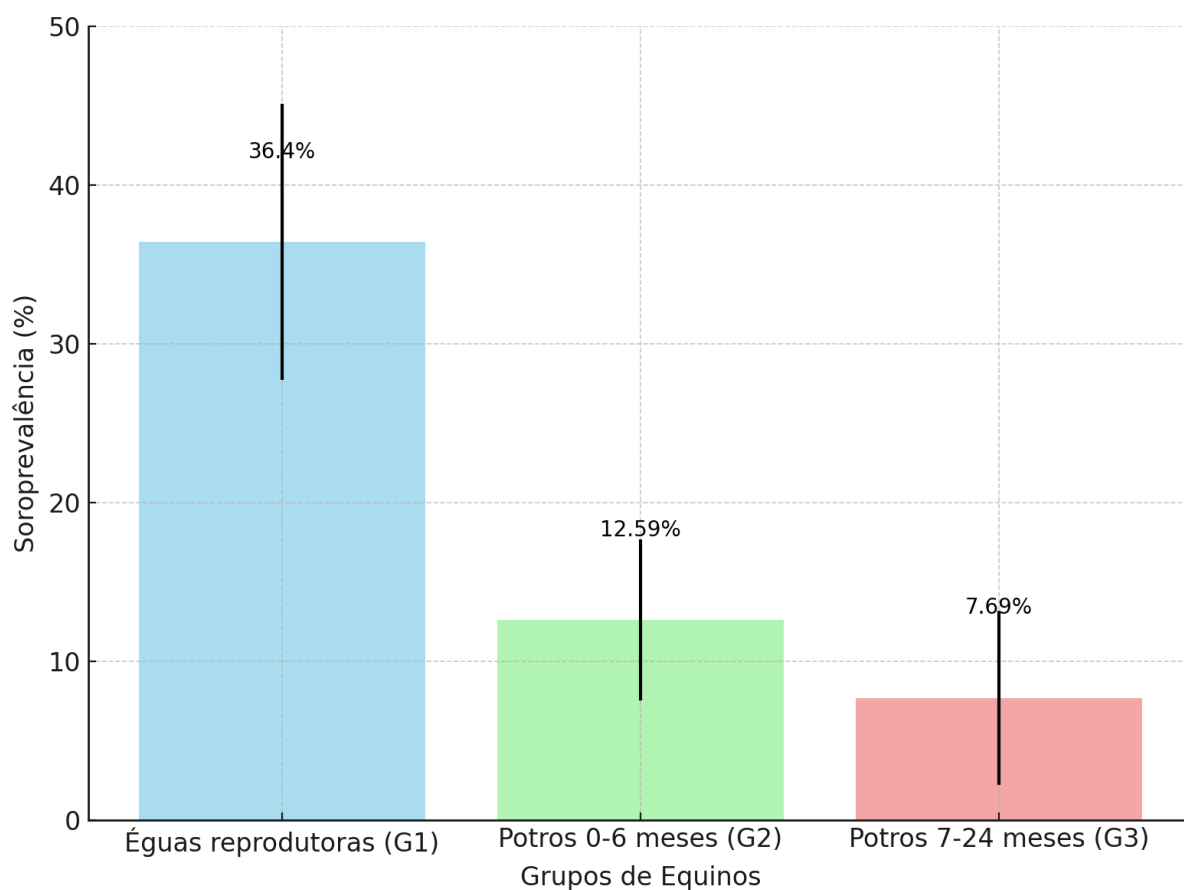


Figura 4. Soroprevalência de *L. intracellularis* por grupos de equinos de diferentes idades.

A região da Zona da Mata apresentou uma soroprevalência numérica maior (24,08%) em comparação com a região Metropolitana de Belo Horizonte (13,73%) (Tabela 4). Na Zona da Mata, o grupo com maior soroprevalência foi o G1, com

44,44%, seguindo pelo grupo G2 com 17,39%. O grupo G3 apresentou a menor soroprevalência, com 10,17%. Na região Metropolitana de Belo Horizonte, também foi maior a soroprevalência no grupo G1, com 27,27%, enquanto o grupo G2 teve uma soroprevalência de 7,58% e em grupo G3, de apenas 3,13%.

REGIÃO	SOROPREVALÊNCIA			
	G1	G2	G3	Total
ZM	44,44%	17,39%	10,17%	24,08%
MBH	27,27%	7,58%	3,13%	13,73%
Total	36,44%	12,59%	7,69%	19,48%

Tabela 4. Soroprevalência de *L. intracellularis* em diferentes grupos etários de equinos nas regiões da Zona da Mata (ZM) e Metropolitana de Belo Horizonte (MBH), no estado de Minas Gerais (MG).

Entre os 17 potros entre 0 e 6 meses de idade sorologicamente positivos (Tabela 5), 11 tinham entre 1 e 3 meses de idade e eram progênies de éguas sorologicamente positivas. Dois potros, com 5 meses de idade, eram progênies de éguas sorologicamente negativas. Outros dois potros, não tinham amostras correspondentes às suas mães, pois não foi possível coletar as amostras das éguas por problemas logísticos no momento da coleta e os dois potros restantes haviam sido desmamados precocemente, antes dos 6 meses de idade, o que impediu a coleta de amostras das respectivas éguas.

Potros Positivos	Idade (meses)	Status da égua progenitoras
1	1	Positiva
2	1	Positiva
3	1	Positiva
4	2	Não Disponível
5	1	Positiva
6	1	Positiva
7	2	Positiva
8	2	Positiva
9	1	Positiva
10	5	Negativa
11	5	Negativa
12	6	Desmamado
13	4	Positiva

14	1	Não Disponível
15	3	Positivos
16	6	Positivos
17	6	Desmamado

Nota: Negativa: éguas sem anticorpos detectáveis; Positivos: éguas com anticorpos detectáveis. Não disponível: amostra da égua não foi coletada; Desmamado: potros desacompanhados da mãe

Tabela 5. Potros de 0 a 6 meses soropositivos, idade e resultado da sorologia das éguas progenitoras correspondentes

5.1 Fatores de risco associados a infecção por *L. intracellularis*

Com base nos resultados da análise de regressão logística de efeito misto (Tabela 6) foram identificados dois fatores de risco para a infecção por *L. intracellularis*: idade dos animais (OR = 4,61, IC 95% = 2,350-9,056, $p < 0,05$), sendo que os animais adultos (éguas reprodutoras) tiveram maiores chances de serem soropositivas, e a presença de suínos na mesma propriedade (OR=10,17, IC 95%= 1,514-68,34, $p < 0,05$). Por outro lado, o isolamento dos animais quando voltam dos eventos foi considerado como um fator de proteção, com uma OR de 0,32 (IC 95% = 0,125-0,861, $p < 0,05$).

Como as respostas para algumas variáveis foram muito semelhantes entre as propriedades, como o contato com animais domésticos, presença de roedores e de animais silvestres, não foi possível incluí-las na análise estatística.

Variável	OR	Valor P	IC 95%
Equinos com idade superior a três anos	4,61	0.000	2,35-9,05
Equinos com idade entre sete e 24 meses	0,60	0,304	0,22-1,58
Equinos com presença de suínos na mesma propriedade	10,17	0.017	1,51-68,34
Equinos mantidos em isolamento ao retorno de eventos	0,32	0.024	0,125-0,86

Tabela 6. Análise de regressão logística de efeito misto para avaliação de fatores de risco associado à soropositividade para *L. intracellularis* em equinos das regiões Metropolitana de Belo Horizonte e Zona da Mata do estado de Minas Gerais.

6. Discussão

Minas Geras é o estado com a maior população equina do Brasil, com um número estimado de 788.064 equinos distribuídos nas sete regiões do estado (IBGE, 2023). Apesar disso, os estudos sobre a epidemiologia da EPE ainda são escassos, evidenciando a necessidade de mais investigação. Este estudo se destaca por avaliar a prevalência e a soroprevalência de *L. intracellularis* em 26 planteis de equinos, distribuídos em 17 municípios localizados nas mesorregiões Metropolitana de Belo Horizonte e Zona de Mata, em Minas Gerais. Foram utilizadas as técnicas IPMC e qPCR para o diagnóstico da EPE. É o primeiro estudo realizado no estado que investiga a infecção da bactéria em três diferentes grupos etários de equinos. Além disso, é o primeiro no Brasil ao analisar os fatores de risco associados à infecção em equinos, contribuindo significativamente para compreender melhor a epidemiologia da EPE.

Nosso estudo revelou uma soroprevalência numericamente maior de *L. intracellularis* na mesorregião da Zona da Mata (24,08%) em comparação com a região Metropolitana de Belo Horizonte (13,73%). Considerando as duas regiões em conjunto, a maior soroprevalência foi observada no grupo das éguas reprodutoras (G1), com 33,44%, enquanto o grupo com a menor soroprevalência foi o dos potros de 7-24 meses de idade (G3), com 7,69%. A detecção de DNA de *L. intracellularis* em amostras de fezes foi baixa, com uma prevalência por animal de 0,61%. Além disso, foram identificados dois fatores de risco: animais com mais de 3 anos de idade tinham maior probabilidade de serem soropositivos para anticorpos anti-*L. intracellularis*, e a presença de suínos na mesma propriedade aumenta significativamente o risco de infecção. Ademais, a prática de isolar os animais após os eventos reduziu as chances de detecção dos anticorpos anti-*L. intracellularis*.

Os resultados da PCR neste estudo mostram uma prevalência menor em comparação com os resultados da sorologia. Esses resultados estão de acordo com os estudos realizados por Guimarães-Ladeira et al. (2009) e Caleffo et al. (2021), que detectaram uma prevalência de 3,14% e 4,32% na PCR, respectivamente, em Minas Gerais e no Paraná. A baixa detecção da bactéria nas fezes pode ser explicada pela curta duração da eliminação fecal, que varia de 7 a 21 dias (Pusterla et al., 2010;

Pusterla et al.,2012), enquanto os anticorpos podem persistir no organismo por um período mais prolongado. Além disso, a eliminação fecal de *L. intracellularis* pode ser intermitente (Guedes e Gebhart, 2003a). Essas limitações, evidenciadas em nosso estudo e em investigações anteriores, ressaltam a importância do uso conjunto de técnicas sorológicas e moleculares. Essa combinação permite maior precisão na determinação da circulação da bactéria nos planteis.

Considerando o contexto brasileiro, nosso estudo está de acordo com estudos anteriores que também demonstram a presença de *L. intracellularis* em populações em diversos estados. A soroprevalência geral de 19,48% encontrada em nosso estudo, considerando os três grupos amostrados, é superior à identificada por Guimarães-Ladeira et al. (2009), que relatam uma soroprevalência de 9,42% em Minas Gerais. Nesse estudo, 223 amostras de sangue foram coletadas de 14 planteis equinos localizados em cinco municípios da região Metropolitana de Belo Horizonte, incluindo todas as faixas etárias. Entre os animais positivos, 10 estavam em idade de 5 a 12 meses, 6 entre 14 e 18 meses e 5 eram adultos. Nesse trabalho a técnica de Imunoperoxidase em lâmina de vidro foi usado para o diagnóstico sorológico. Da mesma forma, Caleffo et al. (2021) relatam uma soroprevalência de 5,55% no estado do Paraná, indicando uma menor exposição à *L. intracellularis* nos equinos deste estado. Por outro lado, Souza et al. (2023) encontraram uma soroprevalência notavelmente maior, de 51%, em equinos da raça Puro Sangue Inglês no Rio Grande do Sul, o que sugere uma variação considerável na prevalência da infecção no Brasil. Deve-se ressaltar que esses estudos utilizaram a técnica IPMC, que se destaca por sua precisão, com uma especificidade de 100% e sensibilidade de 90% (Guedes et al., 2002a).

Quando comparamos os nossos resultados com resultados de estudos conduzidos em outros países, encontramos divergências. Na Alemanha, Breuer et al. (2011) relataram uma soroprevalência de 100% em éguas reprodutoras, enquanto na Holanda, Kranenburg et al. (2011) encontraram uma soroprevalência de 99% em equinos com mais de 2 anos de idade. Na Bélgica, Loublier et al. (2020) relataram uma alta soroprevalência de 98,8% em equinos adultos, e um estudo mais recente na Coreia revelou que 78,8% dos equinos adultos eram soropositivos (Kim et al., 2024).

Em todos esses estudos a prevalência foi calculada na escala animal e o diagnóstico foi feito usando a técnica ELISA. Em nosso estudo, a soroprevalência por animal no grupo das éguas reprodutoras foi de apenas 36,6% sendo elas todas as maiores de 3 anos de idade. Embora essa soroprevalência seja menor em comparação com os resultados dos outros países, o grupo das éguas reprodutoras foi o que apresentou mais animais soropositivos. A alta soroprevalência observada em animais adultos em todas as investigações sugere uma persistência prolongada de anticorpos contra *L. intracellularis* ou uma exposição contínua a bactéria (Steinman et al., 2014). Os resultados de estudos anteriores realizados no Brasil (Guimaraes-Ladeira, 2009 et al; Caleffo et al, 2021), junto com os resultados obtidos neste estudo, sugerem uma menor circulação de *L. intracellularis* nos plantéis equinos brasileiros em comparação com estudos realizados em outros países. Uma possível explicação para esse fato é que, no Brasil, as práticas de criação são extensivas e semi-intensivas podem reduzir a viabilidade da bactéria no ambiente, diminuindo conseqüentemente, as chances de infecção.

Ao avaliar os diferentes grupos etários, observamos que as éguas reprodutoras apresentam a maior soroprevalência (36,4%), um resultado que coincide com a pesquisa de Souza et al. (2023), que relataram uma soroprevalência elevada em éguas reprodutoras (86,8%). Por outro lado, no estudo de Souza, o grupo com menor soroprevalência foi o dos potros de 0-6 meses (5,2%), o que contrasta com nosso estudo, onde esse grupo apresentou a segunda maior taxa de soropositividade, com uma prevalência de 12,59%. Essa diferença pode estar relacionada ao manejo dos potros, especialmente à quantidade de colostro ingerido e absorvido. Além disso, a concentração de anticorpos específicos no colostro das éguas também tem impacto direto na transferência de imunidade passiva (Pusterla et al., 2009).

Entre os 17 potros soropositivos do presente trabalho, 11 eram filhos de éguas sorologicamente positivas e tinham entre 1 e 3 meses de idade, o que sugere que os potros ainda possuem anticorpos colostrais transferidos passivamente contra *L. intracellularis*. Esse achado coincide com o estudo de Pusterla et al. (2009), que sugere que os anticorpos colostrais podem ser detectáveis no soro dos potros durante os primeiros 1 a 3 meses de vida.

De acordo com a nossa análise de fatores de risco, a presença de suínos na mesma propriedade aumenta a chance de soropositividade para anticorpos anti-*L. intracellularis* em equinos. A *L. intracellularis* é um patógeno amplamente disseminado considerado endêmico na suinocultura intensiva do Brasil e diversos países (Wu et al., 2014; Resende et al., 2015b; Arnold et al., 2019; Barbosa et al., 2023). Nas propriedades incluídas em nosso estudo, apenas uma relatou a presença de equinos e suínos e os resultados deste estudo indicam a possibilidade de transmissão cruzada de *L. intracellularis* entre essas duas espécies. Embora ocorra soroconversão de ambas as espécies quando há a transmissão cruzada, a suscetibilidade às cepas depende do hospedeiro. Vannucci et al. (2012) observaram que os sinais clínicos, as lesões e as respostas imunológicas são mais fortes em animais infectados com cepas específicas de *L. intracellularis* de sua própria espécie, ou seja, equinos infectados com cepas de *L. intracellularis* provenientes de equinos, e suínos infectados com cepas de *L. intracellularis* obtidas de suínos, apresentam sinais clínicos mais severos. Este é o primeiro estudo que identificou a presença de suínos e equinos na mesma propriedade como um fator de risco para a infecção por *L. intracellularis* em equinos. No entanto, um estudo recente em coelhos investigou os fatores de risco para a infecção por *L. intracellularis* e revelou que a presença de suínos ou equinos na mesma propriedade dos coelhos ou em propriedades vizinhas, está associado a um aumento no risco de soropositividade em coelhos (Yeh, 2023). Esses achados reforçam a ideia de que a proximidade com suínos pode contribuir para a disseminação do patógeno entre espécies. No entanto, recomenda-se realizar mais pesquisas para compreender a epidemiologia da transmissão e o impacto clínico-patológico da infecção por cepas originárias de outras espécies animais.

Outro fator de risco para soropositividade para anticorpos anti-*L. intracellularis* identificado neste estudo foi a idade dos animais. Os equinos maiores de 3 anos têm maior probabilidade de terem sido expostos a *L. intracellularis*, o que coincide com os estudos de soroprevalência mencionados anteriormente (Kranenburg et al., 2011; Loublier et al., 2020; Souza et al., 2023; Kim et al., 2024).

O isolamento dos animais ao voltar de eventos foi identificado como um fator de proteção significativo, considerando que, ao participar desses eventos, os animais entram em contato com animais de diferentes propriedades, aumentando o risco de exposição a diversos patógenos. A prática de isolamento após o retorno pode não apenas reduzir a disseminação da *L. intracellularis*, mas também prevenir outras doenças que podem comprometer a saúde do plantel. Nesse contexto, a American Association of Equine Practitioners (AAEP) recomenda para a prevenção da propagação da *L. intracellularis* o isolamento do animal suspeito durante 7 dias e a remoção das fezes imediatamente (AAEP, 2023).

Embora não tenha sido possível analisar variáveis como o contato com cães e gato, além de presença de animais silvestre e roedores, estudos anteriores em rebanhos com casos diagnosticados de EPE sugerem que o contato com esses animais representa um risco significativo para a disseminação de *L. intracellularis* entre equinos, uma vez que eles podem excretar a bactéria e atuar como hospedeiros e disseminadores da infecção (Pusterla et al., 2008; Pusterla et al., 2012). Recentemente um estudo em Coreia do Sul relatou pela primeira vez a identificação de cinco espécies de mamíferos selvagens (*Rattus norvegicus caraco Pallas*, *Mus musculus*, *Apodemus agrarius*, *Myodes rufocanus* e *Felis catus*) potencialmente associados a disseminação de *L. intracellularis* (Hwang et al, 2017). Esses estudos ressaltam a importância de adotar medidas de biossegurança para evitar a entrada de animais silvestres e domésticos, como gatos, cães e roedores, nas baias dos equinos.

Nosso estudo incluiu amostras de apenas duas mesorregiões, o que pode não representar a realidade das demais. Além disso, as amostras foram coletadas predominantemente de fêmeas reprodutoras, deixando os machos adultos fora das análises. Muitas das propriedades incluídas estavam voltadas para a reprodução e esporte. Nesses planteis frequentemente participam de eventos, aumentando o contato com animais de outras propriedades, o que pode facilitar a disseminação do patógenos.

7. Conclusão

Este estudo demonstrou que a *L. intracellularis* está disseminada nos planteis equinos de Minas Gerais, com maior prevalência no grupo de éguas reprodutoras, seguido pelo grupo dos potros de 0-6 meses de idade. Além disso, foram identificados fatores de risco para a infecção, como a idade dos animais acima de três anos e a presença de suínos na mesma propriedade. Por outro lado, o isolamento dos animais quando voltam de eventos foi identificado como um fator de proteção. Esses resultados reforçam a necessidade de implementar medidas eficazes de biossegurança para promover a saúde dos animais e minimizar a transmissão de *L. intracellularis*. Para futuras pesquisas, seria interessante abordar as interações entre diferentes espécies de animais a fim de compreender melhor os mecanismos de disseminação do patógeno.

REFERÊNCIAS

- Almeida, E. R. (2022). *Lawsonia intracellularis em potro sobreano no estado de Minas Gerais: relato de caso*. Dados não publicado. Universidade Federal de Viçosa.
- American Association of Equine Practitioners [AAEP] (2023). *Lawsonia intracellularis (Equine Proliferative Enteropathy)*. AAEP Infectious Disease Guidelines. https://aaep.org/wp-content/uploads/2024/02/Lawsonia-intracellularis-DZ-Guidelines-Final_0-1.pdf
- Arnold, M., Crienen, A., Swam, H., von Berg, S., Jolie, R., & Nathues, H. (2019). Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in pig herds in different European countries. *Porcine health management*, 5, 1-11.
- Associação Brasileira dos Criadores do Cavalo Mangalarga Marchador [ABCCMM] (2015). *MM é a raça nacional*. <https://www.abccmm.org.br/leitura?id=641>
- Atherton, R. P., & McKenzie III, H. C. (2006). Alternative antimicrobial agents in the treatment of proliferative enteropathy in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 26(11), 535-541. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2006.09.002>
- Barbosa, J. C. R., Nicolino, R. R., Gabardo, M. P., Gonçalves, J. P. M., Suarez-Duarte, M. E., Laub, R. P., ... & Guedes, R. M. C. (2023). Subsistence swine farming: seroprevalence and risk factors associated with *Lawsonia intracellularis* infection in the state of Minas Gerais Brazil in 2016. *Tropical Animal Health and Production*, 55(5), 314.
- Bengtsson, R. J., Wee, B. A., Yebra, G., Bacigalupe, R., Watson, E., Guedes, R. M., ... & Ait-Ali, T. (2020). Metagenomic sequencing of clinical samples reveals a single widespread clone of *Lawsonia intracellularis* responsible for porcine proliferative enteropathy. *Microbial genomics*, 6(4), e000358. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000358>
- Buhr, T. P. (2003). Protein-losing enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis* in a weanling foal. *The Canadian Veterinary Journal*, 44(1), 65. PMID: 12619560; PMCID: PMC340023.

- Bohlin, A. M., Olsen, S. N., Laursen, S. H., Öhman, A., & Van Galen, G. (2019). Lawsonia intracellularis associated equine proliferative enteropathy in Danish weanling foals. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 61, 1-8.
- Boutrup, T. S., Boesen, H. T., Boye, M., Agerholm, J. S., & Jensen, T. K. (2010). Early pathogenesis in porcine proliferative enteropathy caused by Lawsonia intracellularis. *Journal of Comparative Pathology*, 143(2-3), 101-109. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2010.01.006>
- Breuer, J., Schmoll, F., Uhlig, A., & Schusser, G. F. (2011). A follow up study on antibodies against Lawsonia intracellularis in mares and foals from two breeding farms in Germany. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 124(7-8), 337-342. DOI:10.2376/0005-9366-124-337
- Caleffo, T., Dahm, V., dos Santos, J. G., Cheng, A. C., Faccin, M., de Matos, M. R., ... & de Marco Viott, A. (2021). Occurrence of Lawsonia intracellularis in horses raised in three regions of the state of Paraná, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 42(5), 2867–2876. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n5p2867>.
- Collins, A., Love, R. J., Pozo, J., Smith, S. H., & McOrist, S. (2000). Studies on the ex vivo survival of Lawsonia intracellularis. *Journal of Swine Health and Production*, 8(5), 211-215.
- Duhamel, G. E., & Wheeldon, E. B. (1982). Intestinal adenomatosis in a foal. *Veterinary Pathology*, 19(4), 447-450.
- Frazer, M. L. (2007). How to diagnose and treat Lawsonia intracellularis In *Proceedings 53th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*: 236-239.
- Frazer, M. L. (2008). Lawsonia intracellularis infection in horses: 2005–2007. *Journal of veterinary internal medicine*, 22(5), 1243-1248. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0160.x>

- Gabardo, M. P., Sato, J. P., Resende, T. P., & Guedes, R. (2015). Equine proliferative enteropathy on a Brazilian farm. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 35, 443-447. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000500009>
- Guedes, R. (2004). Update on epidemiology and diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *Journal of Swine Health and Production*, 12(3), 134-138.
- Guedes, R. M., & Gebhart, C. J. (2003a). Onset and duration of fecal shedding, cell-mediated and humoral immune responses in pigs after challenge with a pathogenic isolate or attenuated vaccine strain of *Lawsonia intracellularis*. *Veterinary Microbiology*, 91(2-3), 135-145.
- Guedes, R. M., & Gebhart, C. J. (2003b). Preparation and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies against *Lawsonia intracellularis*. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 15(5), 438-446. <https://doi.org/10.1177/104063870301500506>
- Guedes, R. M., Gebhart, C. J., Armbruster, G. A., & Roggow, B. D. (2002b). Serologic follow-up of a repopulated swine herd after an outbreak of proliferative hemorrhagic enteropathy. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 66(4), 258. PMID: 12418781 PMCID: PMC227013
- Guedes, R. M., Gebhart, C. J., Deen, J., & Winkelman, N. L. (2002a). Validation of an immunoperoxidase monolayer assay as a serologic test for porcine proliferative enteropathy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14(6), 528-530. [10.1177/104063870201400618](https://doi.org/10.1177/104063870201400618)
- Guimarães-Ladeira, C. V., Palhares, M. S., Oliveira, J. S. V., Ramirez, M. A., & Guedes, R. M. C. (2009). Faecal shedding and serological cross-sectional study of *Lawsonia intracellularis* in horses in the state of Minas Gerais, Brazil. *Equine veterinary journal*, 41(6), 593-596. <https://doi.org/10.2746/042516409X407639>
- Huan, Y. W., Bengtsson, R. J., MacIntyre, N., Guthrie, J., Finlayson, H., Smith, S. H., ... & Ait-Ali, T. (2017). *Lawsonia intracellularis* exploits β -catenin/Wnt and Notch

signalling pathways during infection of intestinal crypt to alter cell homeostasis and promote cell proliferation. *PLoS One*, 12(3), e0173782.

Hwang, J. M., Seo, M. J., & Yeh, J. Y. (2017). *Lawsonia intracellularis* in the feces of wild rodents and stray cats captured around equine farms. *BMC veterinary research*, 13, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1155-8>

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo agropecuário Brasil, 2023. <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/mg>

Jacobson, M., Wallgren, P., Nordengrahn, A., Merza, M., & Emanuelson, U. (2011). Evaluation of a blocking ELISA for the detection of antibodies against *Lawsonia intracellularis* in pig sera. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53, 1-6.

Kim, D. S., Irgashev, A., Orozov, J., & Cho, G. J. Seroprevalence against *Lawsonia intracellularis* among Thoroughbred Horses in Korea. <https://doi.org/10.57239/PJLSS-2024-22.2.0058>

Kranenburg, L. C., Van Ree, H. E., Calis, A. N., de Pater, M., Buter, G. J., & van Maanen, C. (2011). The seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* in horses in The Netherlands. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 136(4), 237-243. PMID: 21528618

Lavoie, J. P., Drolet, R., Parsons, D., Leguillette, R., Sauvageau, R., Shapiro, J., ... & Gebhart, C. J. (2000). Equine proliferative enteropathy: a cause of weight loss, colic, diarrhoea and hypoproteinaemia in foals on three breeding farms in Canada. *Equine Veterinary Journal*, 32(5), 418-425. <https://doi.org/10.2746/042516400777591110>

Lawson, G. H. K., & Gebhart, C. J. (2000). Proliferative enteropathy. *Journal of comparative pathology*, 122(2-3), 77-100. <https://doi.org/10.1053/jcpa.1999.0347>.

Lawson, G. H., McOrist, S., Jasni, S., & Mackie, R. A. (1993). Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy: cultivation and maintenance in vitro. *Journal of*

Clinical Microbiology, 31(5), 1136-1142. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.5.1136-1142.1993>

Lima, R. A. D. S., & Cintra, A. G. (2016). *Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo*. Brasília. MAPA

Loublier, C., Cerri, S., Gryspeerdt, A., Amory, H., Bauwens, C., & Cesarini, C. (2020). High seroprevalence against *Lawsonia intracellularis* among adult horses in Belgium. *Journal of equine veterinary science*, 95, 103304. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103304>

Macêdo, N. R. D., Al-Ghamdi, G., Gebhart, C. J., & Guedes, R. M. C. (2008). Enteropatia proliferativa em eqüinos. *Ciência Rural*, 38, 889-897. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000300049>

McOrist, S., & Gebhart, C. J. (2005). Genus *Lawsonia*. *Manual of Systematic Bacteriology*, 940-943.

McOrist, S., Blunt, R., & Gebhart, C. J. (2011). Pig-associated *Lawsonia intracellularis* in various on-farm dipterous fly stages. *Journal of swine health and production*, 19(5), 277-283.

McOrist, S., Gebhart, C. J., Boid, R., & Barns, S. M. (1995). Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov., sp. nov., the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(4), 820-825.

Niwa, H., Higuchi, T., Fujii, S., Kinoshita, Y., Uchida-Fujii, E., Sueyoshi, M., ... & Ueno, T. (2022). Prevalence of equine proliferative enteropathy in Hidaka district, Hokkaido, over five seasons. *Journal of Equine Science*, 33(4), 71-74. <https://doi.org/10.1294/jes.33.71>

Nogradi, N., Slovis, N. M., Gebhart, C. J., Wolfsdorf, K. E., McCracken, J. L., Scoggin, C. F., ... & Pusterla, N. (2012). Evaluation of the field efficacy of an avirulent live *Lawsonia intracellularis* vaccine in foals. *The Veterinary Journal*, 192(3), 511-513. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.05.026>

- Oh, Y., Hossain, M. M., & Cho, H. S. (2017). Seroprevalence and molecular detection of *Lawsonia intracellularis* from asymptomatic horses in Korea. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 47(4), 543-549. DOI:10.56808/2985-1130.2868
- ONU DATA (2024). *Statistics Horses of the FAOSTAT*. <https://data.un.org/Data.aspx?d=FAO&f=itemCode%3A1096>
- Pedersen, K. S., Holyoake, P., Stege, H., & Nielsen, J. P. (2010). Diagnostic performance of different fecal *Lawsonia intracellularis*—specific polymerase chain reaction assays as diagnostic tests for proliferative enteropathy in pigs: a review. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 22(4), 487-494.
- Pereira, C. E. R., Resende, T. P., Vasquez, E., Marshall-Lund, L., Guedes, R. M. C., & Gebhart, C. J. (2019). In vitro antimicrobial activity against equine *Lawsonia intracellularis* strains. *Equine veterinary journal*, 51(5), 665-668. <https://doi.org/10.1111/evj.13071>
- Pusterla, N., & Gebhart, C. (2009). Equine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*. *Equine veterinary education*, 21(8), 415-419. <https://doi.org/10.2746/095777309X453119>
- Pusterla, N., & Gebhart, C. (2013). *Lawsonia intracellularis* infection and proliferative enteropathy in foals. *Veterinary microbiology*, 167(1-2), 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.06.017>
- Pusterla, N., Jackson, R., Wilson, R., Collier, J., Mapes, S., & Gebhart, C. (2009). Temporal detection of *Lawsonia intracellularis* using serology and real-time PCR in Thoroughbred horses residing on a farm endemic for equine proliferative enteropathy. *Veterinary microbiology*, 136(1-2), 173-176. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.004>
- Pusterla, N., Mapes, S., & Gebhart, C. (2012). Further investigation of exposure to *Lawsonia intracellularis* in wild and feral animals captured on horse properties

with equine proliferative enteropathy. *The Veterinary Journal*, 194(2), 253-255.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.04.012>

Pusterla, N., Mapes, S., Rejmanek, D., & Gebhart, C. (2008). Detection of *Lawsonia intracellularis* by real-time PCR in the feces of free-living animals from equine farms with documented occurrence of equine proliferative enteropathy. *Journal of wildlife diseases*, 44(4), 992-998. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-44.4.992>

Pusterla, N., Vannucci, F. A., Mapes, S. M., Nogradi, N., Collier, J. R., Hill, J. A., ... & Gebhart, C. J. (2012). Efficacy of an avirulent live vaccine against *Lawsonia intracellularis* in the prevention of proliferative enteropathy in experimentally infected weanling foals. *American journal of veterinary research*, 73(5), 741-746. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.5.741>

Pusterla, N., Wattanaphansak, S., Mapes, S., Collier, J., Hill, J., Difrancesco, M., & Gebhart, C. (2010). Oral infection of weanling foals with an equine isolate of *Lawsonia intracellularis*, agent of equine proliferative enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(3), 622-627. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0482.x>

Resende, T. P. (2015a) *Soroperfil e soroprevalência para Lawsonia intracellularis em rebanhos suínos do estado de Minas Gerais*. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais.

Resende, T. P., Pereira, C. E. R., Gabardo, M. D. P., Haddad, J. P. A., Lobato, Z. I. P., & Guedes, R. M. C. (2015b). Serological profile, seroprevalence and risk factors related to *Lawsonia intracellularis* infection in swine herds from Minas Gerais State, Brazil. *BMC veterinary research*, 11, 1-6.


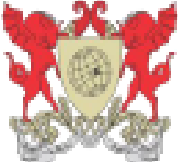
Sampieri, F., Alcorn, J., Allen, A. L., Clark, C. R., Vannucci, F. A., Pusterla, N., ... & Hamilton, D. L. (2014). Pharmacokinetics of gallium maltolate in *Lawsonia intracellularis*-infected and uninfected rabbits. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 37(5), 486-499. <https://doi.org/10.1111/jvp.12114>

- Sampieri, F., Vannucci, F. A., Allen, A. L., Pusterla, N., Antonopoulos, A. J., Ball, K. R., ... & Gebhart, C. J. (2013). Species-specificity of equine and porcine *Lawsonia intracellularis* isolates in laboratory animals. *Canadian journal of veterinary* 77(4), 261. PMID: PMC3788657
- Schumacher, J., Schumacher, J., Rolsma, M., Brock, K. V., & Gebhart, C. J. (2000). Surgical and medical treatment of an Arabian filly with proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(6), 630-632.
- Smith, S. H., & McOrist, S. (1997). Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Research in veterinary science*, 62(1), 6-10. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(97\)90171-5](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(97)90171-5)
- Souza, R. P., Mousquer, M. A., Müller, V., Barbosa, J. C. R., Leite, F. P. L., Guedes, R. M. C., ... & Nogueira, C. E. (2023). High Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* in Thoroughbred Farms in Southern Brazil. *Journal of Equine Veterinary Science*, 128, 104890. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104890>
- Steinman, A., Aharonson-Raz, K., Blum, S. E., Shnaiderman, A., Klement, E., Lensky, I. M., ... & Page, A. E. (2014). Demographic and environmental risk factors for exposure to *Lawsonia intracellularis* in horses in Israel. *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(5), 641-646. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.12.003>
- Vannucci, F. A., & Gebhart, C. J. (2014). Recent advances in understanding the pathogenesis of *Lawsonia intracellularis* infections. *Veterinary pathology*, 51(2), 465-477. <https://doi.org/10.1177/0300985813520>
- Vannucci, F. A., Pusterla, N., Mapes, S. M., & Gebhart, C. (2012). Evidence of host adaptation in *Lawsonia intracellularis* infections. *Veterinary research*, 43, 1-9. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-53>
- Wattanaphansak, S., Singer, R. S., & Gebhart, C. J. (2010). Evaluation of in vitro bactericidal activity of commercial disinfectants against *Lawsonia intracellularis*. *Journal of swine health and production*, 18(1), 11-17.

- Williams, N. M., Harrison, L. R., & Gebhart, C. J. (1996). Proliferative enteropathy in a foal caused by *Lawsonia intracellularis*-like bacterium. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 8(2), 254-256.
<https://doi.org/10.1177/1040638796008002>
- Wu, Z., Ling, Y., Tian, D., Pan, Q., Heegaard, P. M., & He, C. (2014). Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* antibodies in intensive pig farms in China. *BMC veterinary research*, 10, 1-5
- Yeh, J. Y. (2023). Prevalence and associated risk factors for *Lawsonia intracellularis* infection in farmed rabbits: A serological and molecular cross-sectional study in South Korea. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1058113.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1058113>

APÊNDICE 1

Questionário epidemiológico aplicado nas propriedades

 <p>Pós-Graduação Medicina Veterinária</p>	UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA DEPARTAMENTO DE VETERINÁRIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA	
QUESTIONARIO EPIDEMIOLOGICO		
PERFIL SOROLÓGICO, SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCOS ASSOCIADOS Á INFECÇÃO POR LAWSONIA INTRACELLULARIS EM EQUINOS DE MINAS GERAIS		
Dados Gerais		
Nome do entrevistado: _____		Data: _____
Nome da Propriedade: _____		Cidade: _____
Questão:		
1. Quantos equídeos há nesta propriedade?	a) 1 a 10 b) 11 a 50 c) 51 a 100 d) > 100	
2. Qual é o sistema de criação nesta propriedade?	a) Intensivo b) Extensivo c) Semi-intensivo	
3. Qual é o objetivo da criação?	a) Esporte b) Trabalho c) Lazer d) Reprodução	
4. Qual é a origem dos animais novos?	a) Reprodução interna b) Eventos c) Outras propriedades d) Comercio de equídeos e) Outros _____	
5. Os animais participam de eventos e aglomerações?	a) Sim b) Não	
6. Se sim, com qual frequência os animais participam nesses eventos?	a) Mensal b) Semestral c) Anual	
7. Os animais são isolados quando voltam dos eventos?	a) Sim b) Não	

8. Equídeos de idades/fases de criação diferentes compartilham as mesmas baias ou piquetes?	a) Sim b) Não
9. Os animais tem contato com suínos na propriedade?	a) Sim b) Não
10. Os animais tem contato com gatos?	a) Sim b) Não
11. Os animais tem contato com cães?	a) Sim b) Não
12. Há presença de roedores na propriedade?	a) Sim b) Não
13. Há presença de animais silvestres na piquetes ou baias?	a) Sim b) Não
14. Os animais consomem água tratada?	a) Sim b) Não
15. Utilização de esterqueiras na propriedade?	a) Sim b) Não
16. Idade de desmame dos animais?	a) < 6 meses de idade b) > 6 meses de idade
17. Os animais são alimentados com feno?	a) Sim b) Não
18. Os animais são alimentados com ração?	a) Sim b) Não
19. Os animais tem acesso a pasto?	a) Sim b) Não
Instalações	
20. Tipo de instalação onde os animais passar a maior parte do tempo	a) Cama b) Piso natural c) Concreto d) Pasto
21. Frequência de limpeza das instalações?	a) Diariamente b) Semanalmente c) Quinzenalmente
22. Utiliza desinfetante nas instalações?	a) Sim b) Não
Manejo sanitário	
23. Realiza quarentena dos animais novos?	a) Sim b) Não
24. Se sim, por quanto tempo?	a) menos de 30 dias

	b) 30 dias c) 40 dias d) Mais de 40 dias
25. Quais procedimentos são realizados durante o período de quarentena? (marque todos que se apliquem)	a) Exame clínico diário b) Exames sorológicos c) Vacinação d) Banho
26. Quais Vacinas são administradas nos animais? (marque todos que se apliquem)	a) Leptospirose b) Raiva c) Influenza equina d) Encefalomielite e) Tétano f) Rinopneumonite Equina
27. Realiza controle de roedores na propriedade?	a) Sim b) Não
28. Realiza controle de parasitas internos?	a) Sim b) Não
29. Realiza controle de parasitas externos?	a) Sim b) Não
30. Histórico de problemas digestivos (diarreia) na propriedade nos últimos 6 meses? Quais? _____	a) Sim b) Não
31. Histórico de mortes nos últimos 6 meses? Causa? _____	a) Sim b) Não
32. Há outras doenças entéricas já diagnosticadas no rebanho? Quais? _____	a) Sim b) Não
33. A propriedade tem assistência veterinária? Com qual frequência o veterinário realiza visita?? _____	a) Sim b) Não