

UTILIZAÇÃO DE EQUINOS COMO SENTINELA EM INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO DE FLAVIVIROSSES NA CIDADE DE PELOTAS E REGIÃO NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

RAFAELA PINTO DE SOUZA¹; JEMHALLY DILLEMBURG HACK²; MARIANA
ANDRADE MOUSQUER²; CAMILA GERVINI WENDT, BRUNA DOS SANTOS
SUNÉ MORAES, CARLOS EDUARDO WAYNE NOGUEIRA³

¹Universidade Federal de Pelotas – rafaelapsvet@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – jemhally@yahoo.com.br; mmousquer.vet@gmail.com;
camilagervinew@gmail.com; brunasune@hotmail.com; cewn@terra.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – cewn@terra.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os vírus do gênero *Flavivírus* são classificados epidemiologicamente como arbovírus, pois são mantidos em ciclos que envolvem vetores artrópodes e animais vertebrados (FIGUEIREDO, 2007). No gênero *Flavivirus* estão classificadas aproximadamente 50 espécies de vírus divididas em dez grupos antigenicamente relacionados, estando entre eles o vírus da febre do Nilo Ocidental (WNV), um vírus zoonótico de importância na saúde pública e na medicina equina (FLORES, 2009).

O ciclo viral do WNV é mantido primariamente por insetos hematófagos que adquirem o vírus ao realizarem o repasto sanguíneo em aves virêmicas, consideradas reservatórios naturais e amplificadores do agente. Entretanto, o vírus pode ser ocasionalmente transmitido para humanos e animais domésticos, principalmente equinos, sendo considerados hospedeiros acidentais, pois não participam do ciclo natural de transmissão viral, sobretudo pelos baixos níveis de viremia que desenvolvem (KOMAR, 2003; HAYES et al., 2005). Os equinos podem apresentar infecções subclínicas, quadro febril de severidade variável e em casos mais graves, meningoencefalite de curso fatal (WARD et al., 2006).

O WNV foi descrito inicialmente na África, e durante décadas manteve-se restrito aos continentes Europeu, Africano e Asiático. No final do século passado o vírus emergiu na América do Norte e se disseminou pelos países das Américas Central e do Sul. No Brasil a primeira identificação do vírus foi em um equino no estado do Mato Grosso em 2011 e em 2014 foi notificado o primeiro caso brasileiro em humano no estado do Piauí. (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 19). Entre janeiro de 2014 e junho de 2019, foram notificadas ao Ministério da Saúde 98 epizootias em equídeos no Brasil, das quais cinco foram confirmadas e 65 permanecem em investigação (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

De acordo com o relatório anual de rotas e áreas de concentração de aves migratórias, a região de Pelotas faz parte da “Rota Brasil Central” e “Rota Atlântica”, o que facilita a entrada de doenças, principalmente as virais (ARAUJO, 2011; OLIVEIRA et al., 2016). Por este motivo, se faz necessário a intensificação da vigilância epidemiológica utilizando equinos como sentinelas, a fim de monitorar a ocorrência desta epizootia, definir medidas de prevenção e controle e o risco de ocorrência em humanos.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um inquérito soroepidemiológico utilizando equinos como sentinelas para a presença de Flaviviroses na cidade de Pelotas e região.

2. METODOLOGIA

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA/UFPEL), estando cadastrado sob o número 3256.

Foram coletadas amostras de sangue de 275 equinos, sem raça definida, sendo 110 fêmeas (gestantes e não gestantes) e 165 machos (castrados e não castrados) com idade superior a dois anos de idade. Os equinos utilizados neste estudo eram animais provenientes de apreensões em rodovias federais sob jurisdição da Polícia Rodoviária Federal e Concessionária Ecosul na região de Pelotas-RS, apreensões pela Prefeitura municipal de Pelotas e Capão do Leão, além de animais de tração utilizados em coletas de materiais recicláveis na cidade de Pelotas-RS que eram atendidos no Ambulatório Ceval, vinculado a um projeto de extensão da Universidade Federal de Pelotas.

As amostras foram coletadas em um único momento, logo após a apreensão dos animais ou durante os atendimentos no ambulatório Ceval. O sangue foi colhido em tubo sem anticoagulante através da venopunção da veia jugular externa utilizando sistema vacutainer. Os soros sanguíneos foram armazenados em microtubos e mantidos a -20°C para posterior análise sorológico. Em um primeiro momento as amostras foram encaminhadas para o Setor de Virologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) para diagnóstico sorológico das Flaviviroses através do teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) utilizando como antígeno um vírus recombinante da febre amarela, como descrito por Arenhart et al (2012). As amostras soropositivas para Flavivírus foram posteriormente encaminhadas para o Laboratório de Imunodiagnóstico do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de São Paulo (FMVZ-USP) para realização de análise molecular através do teste de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre o total de 275 equinos avaliados para a presença de anticorpos contra Flavivírus, 5 animais foram soropositivos (5/275 animais), entretanto a análise molecular não identificou a presença do RNA viral do WNV. Destes animais, dois equinos possuíam histórico desconhecido, pois eram animais apreendidos em via pública. Os outros três equinos eram animais de tração utilizados na coleta de matérias recicláveis na cidade de Pelotas-RS e estavam domiciliados na periferia da cidade.

A IFI utilizou como antígeno um vírus recombinante da febre amarela que expressa proteínas do envelope do vírus. Essas proteínas são as mais imunogênicas e muito similares estruturalmente entre os diferentes flavivírus, podendo assim apresentar reação cruzada (ARENHART et al., 2012)

Foi descrito por Ometto e colaboradores em 2013, que a ausência de detecção de RNA viral de WNV não caracteriza que o vírus não circule na região estudada, uma vez que, na maioria dos casos não é possível isolar o vírus em amostras de soro sanguíneo pois o período de viremia é curto, em média sete dias. Os mesmos autores descrevem que o vírus da Febre do Nilo Ocidental é circulante em aves e equinos no Brasil, entretanto, mais frequentemente como infecções subclínicas devido a influência de outros flavivírus presentes que conferem imunidade cruzada aos indivíduos. Pode-se sugerir que os equinos do nosso estudo apresentam anticorpos para outros Flavivirus, que não o vírus da Febre do Nilo Ocidental, tais como o vírus Saint Louis, justificando os resultados

encontrados. Contudo infecções subclínicas por WNV não podem ser descartadas nestes animais, levando em consideração o período curto de viremia.

Os equinos assim como o homem são hospedeiros accidentais do WNV e apresentam baixa viremia, portanto não possuem a capacidade de propagar a doença no ambiente (ZEINAD et al., 2004; CASTILLO-OLIVARES & WOOD, 2004). Desta forma, a importância dos equinos nesta doença está vinculado a vigilância epidemiológica e rastreamento dos locais onde o vírus circula, sendo apontado como importante sentinel da afecção.

4. CONCLUSÕES

A ausência de detecção do RNA viral da Febre do Nilo Ocidental mas a presença de anticorpos para Flavivírus em equinos assintomáticos na cidade de Pelotas/RS reforça a importância da utilização do equino como sentinel da afecção e alerta para a necessidade de prosseguir com os estudos de investigação soroepidemiológica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, F. A. A. **Inquéritos sorológicos em equídeos e aves silvestres para detecção de anticorpos anti-arbovírus de importância em saúde pública no Brasil.** Goiânia: UFG, 2011. 149p. Tese (Doutorado em Ciência Animal), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, 2011.

ARENHART, S.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.; GIL, L. H. V. Construction of a chimeric yellow fever virus 17-D expressing the prM/E proteins of West Nile virus by homologous recombination in yeast. In: Brazilian Congress of Virology & VII Mercosur Meeting of Virology, 23, 2012, Foz do Iguaçu. **ANNALS.** Foz do Iguaçu: Virus reviews & research, v.17, n. 2, Suppl. 1, p. 416, 2012. Disponível em: <http://157.86.113.86/index.php/vrrjournal/article/view/78/77>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Monitoramento da Febre do Nilo Ocidental no Brasil 2014 a 2019.** Informe n. 1, julho 2019. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/julho/08/informe-febre-nilo-ocidental-n1-8jul19b.pdf>.

CASTILLO-OLIVARES, Javier; WOOD, James. West Nile virus infection of horses. **Veterinary Research**, v. 35, n. 4, p.467-483, jul. 2004.

FIGUEIREDO, L.T.M. Emergent arboviroses in Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Rio de Janeiro, v.40, n.2, p. 224-229, 2007

FLORES, F. E.; WEIBLEN, R. O Vírus do Nilo Ocidental – Revisão Bibliográfica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p. 604-612, 2009.

HAYES, E.B. et al. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. **Emerging Infectious Diseases**. v.11, p.1167-1173, 2005.

KOMAR, N. West Nile virus: epidemiology, and ecology in North America. **Advances in Virus Research**, v.61, p.185- 234, 2003.

OLIVEIRA, A. C.; BARBOSA, A. E. A.; SOUSA, E. B. A.; et al. **Relatório Anual de Rotas e Áreas de Concentração de Aves Migratórias no Brasil - 2016.** Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 63p. 2016. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/DCOM_Miolo_Rotas_Migrat%C3%B3rias_2016_final.pdf> .

OMETTO, Tatiana et al. West Nile virus surveillance, Brazil, 2008–2010. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**, v. 107, n. 11, p.723-730, 4 set. 2013. Oxford University.

WARD, M.P. et al. Characteristics of an outbreak of West Nile virus encephalomyelitis in a previously uninfected population of horses. **Veterinary Microbiology**, v.118, p.255-259, 2006

ZEINAD, Audrey K.; NOVARETTI, Márcia C. Z.; CHAMONE, Dalton A.F. Vírus do Nilo Ocidental: nova ameaça à segurança transfusional? **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 26, n. 2, p.114-121, 2004.