UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Lívia Braga Valle

Influenza Equina: Soroprevalência do Vírus da Influenza Equina H3N8 Florida Clado 1 em equídeos de tração na região metropolitana de Belo Horizonte nos anos de 2010 a 2017

Belo Horizonte
2024

Lívia Braga Valle

Influenza Equina: Soroprevalência do Vírus da Influenza Equina H3N8 Florida Clado 1 em equídeos de tração na região metropolitana de Belo Horizonte nos anos de 2010 a 2017

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal
Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva
Linha de Pesquisa: Diagnóstico, epidemiologia e controle das doenças nos animais

Orientadora: Profª. Drª. Érica Azevedo Costa

Coorientadora: Profª. Drª. Renata de Pino Albuquerque Maranhão

Belo Horizonte
2024

Valle, Lívia Braga. 1994-
V18li Influenza Equina: Soroprevalência do vírus da Influenza Equina H3N8 Flórida Claro 1 em equídeos de tração na região metropolitana de Belo Horizonte nos anos de 2010 a 2017/ Lívia Braga Valle. -2024.
61 f: il.

Orientadora: Érica Azevedo Costa
Coorientadora: Renata de Pino Albuquerque Maranhão

Dissertação (Mestrado) apresentada à Faculdade de Medicina veterinária da UFMG, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre em Ciência Animal.
Bibliografia F. 55 – 61.

1. Veterinária – Teses – 2. Ciência Animal – Teses – I. Costa, Érica Azevedo – II. Maranhão, Renata de Pino Albuquerque – III. Universidade federal de Minas Gerais, Escola de veterinária – IV. Título.

CDD – 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG

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

FOLHA DE APROVAÇÃO

LÍVIA BRAGA VALLE

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

Aprovado(a) em 29 de maio de 2024, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Érica Azevedo Costa - Orientador(a)

Dr.(a). Renata de Pino Albuquerque Maranhão

Dr.(a). Ana Luisa Soares de Miranda Dr.(a). Caio Carvalho Bustamante

Documento assinado eletronicamente por **Erica Azevedo Costa**, **Professora do Magistério Superior**, em 23/07/2024, às 15:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Documento assinado eletronicamente por **Caio Carvalho Bustamante**, **Usuário Externo**, em 23/07/2024, às 17:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Documento assinado eletronicamente por **Ana Luísa Soares de Miranda**, **Professora do Magistério Superior**, em 26/07/2024, às 14:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Documento assinado eletronicamente por **Renata de Pino Albuquerque Maranhao**, **Chefe de departamento**, em 26/07/2024, às 14:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3356033** e o código CRC **E7178B43**.

Referência: Processo nº 23072.236597/2024-66 SEI nº 3356033

AGRADECIMENTOS

Um dia alguém muito especial me disse que a gratidão é algo que cabe em todo e qualquer lugar. Cresci levando essa frase comigo e a cada passo dado me policio a sempre ser grata. Grata pelos caminhos tortuosos, pelas alegrias, pelas lágrimas derramadas e sobretudo pelos momentos difíceis e pelas vitórias

A escola da vida me ensinou muito durante esses anos do mestrado, me ensinou a ser paciente e resiliente, fortaleceu ainda mais a minha fé. Durante o mestrado, o medo da partida do meu pai tomou conta de mim. Um câncer traz consigo muitas inseguranças, quase ou nenhuma certeza, mas uma certeza não deixou de existir. A certeza do amor. Amor de um pai por seus filhos e dos filhos por seus pais. Deus é o maior exemplo de amor, Ele que olhou pelo meu pai e toda minha família, me mostrando o quão misericordioso e bondoso Ele é. Ele me relembrou mais uma vez aquela frase sobre a gratidão. A gratidão esteve presente durante todo o processo de recuperação do meu pai e durante o mestrado. Fui grata por cada vitória do meu pai, por cada dor que ele sentia que refletia que uma fase ruim estava passando, fui grata por cada noite sem dormir pensando no futuro que podia nem chegar, por cada noite mal dormida em um ônibus pra poder chegar em BH a assistir as aulas do mestrado, que passou a ser um sonho não só meu, mas de toda a minha família. Fui grata quando as coisas não deram certo, quando palavras carregadas de sentimentos não tão bons atingiam meu coração. Fui grata aos amigos que me apoiaram, cada um à sua maneira. Meu pai se recuperou, o mestrado continuou e me mantive com a chama da gratidão acessa. Gratidão, meu Deus.

Com essa mesma gratidão que me conduziu, grata estou pela oportunidade de finalizar mais essa etapa ao lado de pessoas incríveis, por isso, aproveito para externar minha eterna gratidão à minha orientadora Drª Érica Azevedo Costa, à minha coorientadora Drª Renata Maranhão, que me acompanharam desde a graduação e sempre tiveram palavras de acalento, estímulo e confiança. Grazzielle foi uma grande parceira, ela me acolheu, me ensinou, pegou na minha mão e me ajudou a ter confiança, Grazi, obrigada! Aos colegas de laboratório, querida família LPVA muito obrigada. Aos amigos do caminho, gratidão! Aos meus amores (todos que eu amo), muito muito muito obrigada, sem vocês a estrada certamente seria sem cor, sem alegria e mais pesada. Aos amigos espirituais, aqueles que partiram e que se mantêm presentes em minha vida, mais uma vez GRATIDÃO.

Na certeza de que novas fases estão por vir: “ANDAR COM FÉ EU VOU, QUE A FÉ NÃO COSTUMA FAIÁ”, pra que eu então possa “entregar, confiar, aceitar e AGRADECER”.

RESUMO

A Influenza Equina, ou gripe equina, é uma das principais doenças respiratórias que afetam os equídeos, causando um impacto econômico significativo e representando uma séria ameaça para a indústria equina durante surtos. A disseminação da doença em populações suscetíveis é uma grande preocupação. A equideocultura no Brasil é vital para a economia, com equinos, asininos e muares distribuídos por todo o país e desempenhando funções em trabalho, esporte e lazer. Animais de tração, como os de carroça, são parte importante das dinâmicas urbanas e estão próximos aos humanos, fatores que facilitam a disseminação da doença e possíveis transmissões entre espécies. Em Belo Horizonte, os animais de carroça são essenciais para a coleta de entulhos, restos de obras e lixo, e não são vacinados contra o vírus da Influenza Equina, tornando-se uma população-chave para estudos epidemiológicos. Este é o primeiro estudo retrospectivo de soroprevalência a analisar 745 amostras de equídeos de tração coletadas entre 2010 e 2017 na região metropolitana de Belo Horizonte, usando testes de inibição da hemaglutinação para o vírus H3N8 FC1. Os resultados mostraram 47,92% de amostras positivas, com 62,76% apresentando altas titulações (≥640), 12,41% titulação média (160-320) e 24,82% baixa titulação (40-80). Esses resultados confirmam a circulação endêmica do vírus na região, alinhando-se com estudos anteriores. A presença de altas titulações em animais não vacinados sugere uma circulação viral ativa, destacando a necessidade de vigilância epidemiológica, especialmente em Belo Horizonte, onde eventos equestres são comuns e os animais de carroça são fundamentais para a cidade. Os resultados também têm implicações para a saúde pública, dado o potencial de transmissão entre equinos e humanos. Embora casos de infecção humana sejam raros, a possibilidade de transmissão cruzada entre espécies é preocupante. A ausência de vacinação nessa população de equídeos aumenta o risco de disseminação do vírus. Este estudo fornece a primeira estimativa retrospectiva de soroprevalência do vírus da Influenza Equina em equídeos de tração em Belo Horizonte, destacando a necessidade de vigilância contínua e medidas preventivas para controlar a disseminação do vírus e proteger a saúde animal e humana.

Palavras chave: H3N8; animais de tração; soroprevalência

ABSTRACT

Equine influenza, or equine flu, is one of the most prominent respiratory diseases affecting equids, causing significant economic impact and posing a serious threat to the equine industry during outbreaks. The spread of the disease among susceptible populations is a major concern. The equine industry in Brazil is vital to the economy, with horses, donkeys, and mules distributed across the country, playing roles in labor, sports, and leisure. Draft animals, such as cart horses, are important in urban dynamics and close to humans, factors that facilitate the spread of the disease and potential interspecies transmission. In Belo Horizonte, cart animals are essential for collecting debris, construction waste, and garbage, and are not vaccinated against equine influenza virus, making them a key population for epidemiological studies. This is the first retrospective seroprevalence study to analyze 745 samples from draft equids collected between 2010 and 2017 in the metropolitan area of Belo Horizonte, using hemagglutination inhibition tests for the H3N8 FC1 virus. The results showed 47.92% positive samples, with 62.76% showing high titers (≥640), 12.41% medium titers (160-320), and 24.82% low titers (40-80). These results confirm the endemic circulation of the virus in the region, aligning with previous findings. The presence of high titers in unvaccinated animals suggests active viral circulation, highlighting the need for epidemiological surveillance, especially in Belo Horizonte, where equestrian events are common and cart animals play a vital role in the city. The results also have implications for public health, given the potential for transmission between equines and humans. Although human infection cases are rare, the possibility of cross-species transmission is concerning. The lack of vaccination in this equid population increases the risk of virus spread. This study provides the first retrospective estimate of seroprevalence of equine influenza virus in draft equids in Belo Horizonte, highlighting the need for continuous surveillance and preventive measures to control the spread of the virus and protect both animal and human health.

Keywords: H3N8; draught animals; seroprevalence

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Representação esquemática da organização do genoma e da estrutura do Alphainfluenzavirus 17

FIGURA 2: UC DAVIS: EIV H3N8 linhagem americana e eurasiana. 21

FIGURA 3: Carroceiros de Belo Horizonte. 37

FIGURA 4: Mapa das Regionais Administrativas de Belo Horizonte. 38

FIGURA 5: URPV Flávio de Oliveira em 2015 40

FIGURA 6: Visita à URPV Flavio de Oliveira em 2015 41

FIGURA 7: Exemplo de etiqueta de uma amostra de 2012. 42

FIGURA 8: Alíquota do vírus H3N8 FC-1 A/EQUINE/MIAMI/69 utilizado após amplificação em células MDCK 44

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1: Segmentos do vírus da Influenza Equina, numeração correspondente aos segmentos demonstrados na FIGURA 1. 18

QUADRO 2: Linha do tempo dos maiores surtos de Influenza Equina dos séculos 20 e 21 no mundo. 23

QUADRO 3: Estudos sorológicos de subtipos virais da Influenza Equina 27

QUADRO 4: Métodos disponíveis para o diagnóstico da Influenza Equina. 32

QUADRO 5: Doenças equinas de notificação obrigatória 36

TABELA 1: Número de casos brasileiros reportados à WOAH no período de 2005 a 2014..... 24

TABELA 2: Amostras submetidas à HI, de acordo com cada ano testado. 45

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: Proporção de diagnósticos positivos e negativos entre os anos de 2010 a 2017..... 45

GRÁFICO 2: Proporção de diagnósticos baixa, média e alta titulação entre os anos de 2010 a 2017..... 46

GRÁFICO 3: Proporção de diagnósticos negativos, baixa, média e altas titulações dos resultados das amostras testadas dos anos de 2010 a 2017..... 47

GRÁFICO 4: Proporção de diagnósticos negativos e positivos entre os anos de 2010 a 2017..... 48

GRÁFICO 5: Variação das titulações entre os anos de 2010 a 2017. 48

LISTA DE ABREVIATURAS

CDC	Centers of Diseases Control and Prevention
DIVA	detecção de infecção em animais vacinados
EIV	Equine Influenza Virus
ELISA	Ensaio por Imunoabsorção Enzimática
ELISA	ensaio imunoenzimático.
EUA	Estados Unidos da América
EV-UFMG	Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais
FC-1	Florida Clado 1
FC-2	Flórida Clado 2
g	gramas
HA	Hemaglutinina
HA	Hemaglutinina
HA	Hemaglutinação
HI	Inibição da hemaglutinação
IAV	Vírus influenza A
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
IE	Influenza Equina
IH	Inibição da Hemaglutinação
M	Proteína de matriz
M	molar
M1	Proteína de Matriz
M2	Proteína de Membrana
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney Epithelial Cells
MDCK	Madin-Darby Canine kidney cells
ml	mililitro
mM	milimolar
mm	milímetro
mRNA	RNA mensageiro
mRNA	RNA mensageiro
NA	Neuraminidase
NA	Neuraminidase
NCBI	Centro Nacional de Biotecnologia
NEP	Proteína de exportação nuclear
NP	Nucleoproteína viral
NP	Nucleoproteína
NS	Proteína não estrutural
NS1	Proteína não estrutural NS1
PA	Proteína Ácido Polimerase
PA	Polimerase ácida
PB1	Polimerase básica 1
PB2	Polimerase básica 2
PBH	Prefeitura de Belo Horizonte

PBS	Solução salina tamponada com fosfato
pH	Potencial hidrogeniônico
RAD	detecção de antígeno rápido;
RNA	Ácido Ribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase precedida de Transcrição Reversa
RT-qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase precedida de Transcrição Reversa Quantitativa
SA	ácido siálico
SLU	Superintendência de Limpeza Urbana
SRH	hemólise radial única;
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UHA	Unidades Hemaglutinantes
UI	unidade internacional
UK	United Kingdom
URPV	Unidade de Recebimento de Pequenos Volumes
VIA	Vírus da Influenza A
WOAH	World Organisation for Animal Health
µl	microlitro
µm	micrômetro
µM	micromolar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **14**
2 HIPÓTESE 15
3 OBJETIVOS 16
3.1 OBJETIVO GERAL 16
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 16
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 16
4.1 INFLUENZA 16
4.2 ALPHAINFLUENZAVIRUS INFLUENZAE (VÍRUS INFLUENZA A) 17
4.3 INFLUENZA EQUINA 20
4.3.1 Evolução dos vírus H3N8 da Influenza Equina 21
4.3.2 Distribuição da Influenza Equina no mundo e no Brasil 22
4.3.2.1 Influenza Equina no mundo 22
4.3.2.2 Influenza Equina no Brasil 23
4.3.2.3 Soroprevalência no Brasil 25
4.3.3 Transmissão 28
4.3.3.1 Transmissão e interação entre espécies 28
4.3.4 Patogenicidade 29
4.3.5 Sinais clínicos 30
4.3.6 Diagnóstico 31
4.3.6.1 Hemaglutinação e inibição da hemaglutinação. 32
4.3.7 Vacinação 33
5 EQUIDEOCULTURA NO BRASIL 34
5.1 Programa Nacional de Sanidade dos Equídeos (PNSE) 35
5.2 Carroceiros 37
6 MATERIAL E MÉTODOS 40
6.1 Amostragem 40
6.2 Separação e tratamento das amostras 42
6.3 Inibição da hemaglutinação 43
6.4 Vírus 43
6.5 Análise de dados e estatística 44
7 RESULTADOS **45**
8 DISCUSSÃO **49**
9 CONCLUSÃO **54**
REFERÊNCIAS **55**

1 INTRODUÇÃO

A Influenza Equina (IE), também conhecida como gripe equina, é uma das doenças respiratórias mais significativas em termos econômicos entre os equídeos globalmente. Causada pelo *Alphainfluenzavirus influenzae*, é altamente contagiosa e afeta cavalos, burros, mulas e outros equídeos (WOAH, 2022). Os vírus da Influenza Equina pertencem à família *Orthomyxoviridae*, gênero *Alphainfluenzavirus*, espécie *Alphainfluenzavirus influenzae*, sendo o genoma viral composto por oito segmentos de RNA, de fita única, polaridade negativa que codifica entre 11 a 12 proteínas. Os *Alphainfluenzavirus* são classificados em subtipos com base na reatividade antigênica das glicoproteínas de superfície, responsáveis por sua virulência e antigenicidade, sendo hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA) em maior importância (PALESE & SHAW, 2007).

Os dois subtipos conhecidos do vírus da Influenza Equina (EIV) são o H7N7 (subtipo equino-1 ou equino A-1), identificado pela primeira vez em 1956, e o H3N8 (subtipo equino-2 ou equino A-2), identificado em 1963 (ABDEN ET AL., 2010). Desde 1980, o H7N7 parece ter sido erradicado da população equina, levando à retirada da recomendação de sua inclusão nas vacinas pela WOAH em 2009 (WOAH, 2009). No entanto, o H3N8 continuou a circular em equinos, divergindo em linhagens evolutivas europeias (A/eq/Suffolk/89-like) e americanas (A/eq/Newmarket/1/93-like) na década de 1990 (LAI ET AL., 2004). Essas linhagens americanas se subdividiram em sublinhagens, como Flórida, Kentucky e Sul-Americana, sendo a sublinhagem Flórida dividida em clados 1 (FC-1) e 2 (FC-2). A evolução contínua do H3N8 resultou em surtos em equinos vacinados globalmente, exigindo esforços para monitorar e ajustar as cepas virais nas vacinas de acordo com as mudanças antigênicas detectadas nos surtos.

No Brasil, a caracterização do vírus tem sido desafiadora, com o último vírus caracterizado datando de 2015, quando FAVARO (2015) e colaboradores isolaram e caracterizaram a cepa H3N8 FC-1, responsável pela epidemia de Influenza Equina na América do Sul naquele ano.

A complexidade desse processo se evidencia ao analisar que o último vírus caracterizado no Brasil ocorreu há mais de uma década. Essa falta de atualização no reconhecimento das cepas virais representa um desafio significativo para o controle e a prevenção eficazes da doença. (FAVARO ET AL, 2015).

A (IE) afeta equídeos de todas as idades, resultando em perda dos cílios da superfície epitelial e predispondo a infecções bacterianas secundárias, como *Streptococcus zooepidemicus* e *Pasteurella* spp., tendo como consequência a minestação de quadros clínicos mais graves

(FLORES, 2007). Sintomas como tosse seca e contínua, febre, apatia e lacrimejamento são comuns, com a severidade variando conforme a saúde do animal, a virulência do vírus, o tipo viral e as condições de manejo e as condições ambientais. Grandes concentrações de equinos facilitam a propagação da doença (THOMASSIAN, 2006), por sua natureza altamente contagiosa e de transmissão através do contato direto com animais infectados, assim como por contato indireto através de roupas e equipamentos (WOAH, 2022). No Brasil, onde o rebanho de equídeos é significativo, surtos de IE em equinos vacinados e não vacinados têm sido relatados, com estudos sorológicos indicando a presença de ambos os subtipos (H3N8 e H7N7) em diversas regiões (FAVARO E RICHTZEHAIN, 2016). Análises filogenéticas revelaram mutações antigênicas em isolados recentes, possivelmente impactando na eficácia das vacinas disponíveis (FAVARO ET AL, 2018).

A IE é uma doença de notificação obrigatória no Brasil e no mundo, em que casos devem ser reportados e Organização Mundial de Saúde Animal ou WOAH. A vacinação é obrigatória em solo brasileiro em casos de necessidade de emissão de Guia de Trânsito Animal, visando controlar sua disseminação em ambientes com aglomeração de equídeos. Apesar da disponibilidade de vacinas, a natureza altamente contagiosa e capacidade de variação antigênica do vírus da IE são necessários programas de vigilância contínua e estudos sorológicos para um melhor controle e prevenção da doença. O estudo proposto visa investigar a soroprevalência do EIV, subtipo H3N8, sublinhagem Florida clado 1, em equídeos não vacinados da região metropolitana de Belo Horizonte, chamando a atenção para a circulação do vírus não apenas em propriedades, eventos e aglomerações, mas também nos centros urbanos, através do estudo de uma população de equídeos de tração de carroceiros que vivem em meio à região da grande Belo Horizonte.

2 HIPÓTESE

O EIV do subtipo H3N8, pertencente à sublinhagem Florida clado 1, está disseminado na população de cavalos de tração animal que circulam na região metropolitana de Belo Horizonte, ao longo dos anos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Pesquisar a presença de anticorpos neutralizantes contra o subtipo H3N8, sublinhagem Florida 1, clado 1, em soros de equídeos não vacinados, provenientes de um banco de soros de cavalos de tração animal, que circularam na região metropolitana de Belo Horizonte, durante o período de 2010 a 2017.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Amplificar o EIV subtipo H3N8 sublinhagem Florida clado 1 em linhagem contínua de células epiteliais Madin-Darby Canine Kidney Epithelial Cells (MDCK);
- Realizar a técnica de inibição da hemaglutinação contra o subtipo H3N8, sublinhagem Florida 1, clado 1, nos soros amostrados.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 INFLUENZA

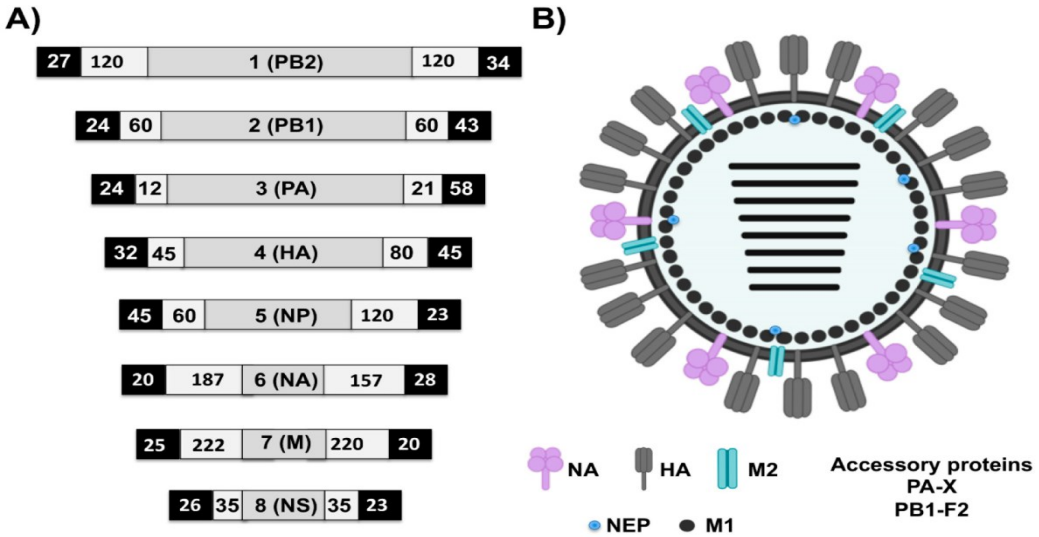
A influenza é uma doença respiratória infecciosa causada pelos vírus da *Alphainfluenzavirus influenzae* e *Betainfluenzavirus influenzae (ICTV, 2023)* em humanos, caracterizada por epidemias sazonais anuais e surtos pandêmicos esporádicos envolvendo cepas zoonóticas do vírus influenza A (KRAMMER ET AL., 2018). Os vírus da influenza pertencem à família *Orthomyxoviridae*, que consiste em vírus envelopados com genoma composto por segmentos de RNA de fita simples de sentido negativo (BLUT, 2009). De acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV 2023), existem nove gêneros sendo eles, *Alphainfluenzavirus, Betainfluenzavirus, Deltainfluenzavirus, Gammainfluenzavirus, Isavirus, Mykissvirus, Quaranjavirus, Sardinovirus, e Thogotovirus* reconhecidos na família, com os gêneros *Alphainfluenzavirus e Betainfluenzavirus*sendo os únicos relevantes para os humanos (WEBSTER ET AL., 1992).

4.2 *ALPHAINFLUENZAVIRUS INFLUENZAE* (VÍRUS INFLUENZA A)

Acredita-se que os *Alphainfluenzavirus influenzae (Vírus Influenza A)* tenham evoluído a partir de um ancestral comum, a influenza aviária, que divergiu em subtipos contínuos de (IVA) infectando diferentes espécies animais, incluindo cavalos e humanos. (WEBSTER,1992). Os *Alphainfluenzavirus influenzae* acometem naturalmente os humanos, causando doenças respiratórias. Além disso, alguns desses vírus infectam outras espécies de mamíferos e várias aves, (ICTV, 2011). A distribuição global desses vírus resulta em epidemias sazonais e pandemias, caracterizadas por altas taxas de infecção (WRIGHT et al., 2007).

Tanto os *Alphainfluenzavirus influenzae* quanto os *Betainfluenzavirus influenzae* (Vírus Influenza B) têm oito segmentos de RNA que codificam subunidades de RNA polimerase, glicoproteínas virais (hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA)), nucleoproteína viral (NP), proteína da matriz (M1), proteína da membrana (M2), proteína não estrutural NS1 e proteína de exportação nuclear (NEP) (KRAMMER ET AL., 2018) Sendo oito segmentos únicos de RNA de fita simples, de polaridade negativa, encapsulados por múltiplas moléculas de NP. Os complexos de polimerase viral (PB1, PB2 e PA) estão localizados nas extremidades dos nucleocapsídeos (WEBSTER ET AL., 1992). Mesmo que antigenicamente diferentes, as proteínas virais codificadas pelo genoma dos vírus *Alphainfluenzavirus* e *Betainfluenzavirus,* possuem funções e estruturas similares (KRAMEMER, 2018) como representados na FIGURA 1 e QUADRO 1, respectivamente.

FIGURA 1: Representação esquemática da organização do genoma e da estrutura do Alphainfluenzavirus



FONTE: ADAPTADO DE OLADUNNI ET AL, 2021

(A) A organização do genoma dos oito segmentos de genes de RNA de sentido negativo (PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M e NS) do vírus Influenza A. B: A arquitetura básica do Vírus *Alphainfluenzavirus* que contém as glicoproteínas de superfície do envelope HA, NA e a proteína do canal de íons M2, todas incorporadas dentro da camada lipídica do envelope derivado da célula hospedeira. Imediatamente abaixo do envelope, há uma camada bem organizada de proteínas M1 e NEP que cercam os oito segmentos de RNA viral de sentido negativo. (Adaptado de OLADUNNI ET AL, 2021)

QUADRO 1: Segmentos do vírus da Influenza Equina, numeração correspondente aos segmentos demonstrados na FIGURA 1.

Segment EIV	Classe Funcional	Proteína(s) viral(is) e Função(ões)
1	Proteína Estrutural	A proteína básica 2 da polimerase (PB2), junto com PB1 e PA, forma o complexo da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), que é importante para a replicação do vírus. Inicia a transcrição por meio da captura de capuz em conjunto com a atividade proteolítica da subunidade PA.
2	Proteína Estrutural	A proteína básica 1 da polimerase (PB1) é a subunidade catalítica do complexo RdRp envolvida na iniciação e elongação do mRNA, RNA complementar (cRNA) e vRNA genômico.
2 +	Proteína Estrutural	PB1-F2, um fator de virulência viral conhecido por promover inflamação e morte celular, ao mesmo tempo que também aumenta a atividade da RdRp viral.
3	Proteína Estrutural	A proteína ácida polimerase (PA) possui atividade proteolítica necessária para a degradação da RNA polimerase II (RNAP II) do hospedeiro durante a infecção. Também está envolvida na montagem do vírus.
3 +	Proteína Estrutural	PA-X contribui para o crescimento viral e repressão da resposta antiviral do hospedeiro e da síntese de proteínas.
4	Glicoproteína de Superfície	Hemaglutinina (HA), uma importante glicoproteína de superfície viral que determina a gama de hospedeiros por meio da ligação do vírus a células hospedeiras suscetíveis.
5	Proteína Estrutural	A nucleoproteína (NP) se liga diretamente ao RNA viral (v) recém-sintetizado, fornecendo uma estrutura para os complexos vRNP.
6	Glicoproteína de Superfície	A neuraminidase (NA), outra importante glicoproteína de superfície, facilita a liberação do vírus e a disseminação eficiente do vírus progenitor de célula para célula.
7	Proteína Estrutural	A proteína da matriz 1 (M1) serve como o local de ancoragem para os complexos de RNA viral nucleoproteico (vRNPs) e a proteína de exportação nuclear (NEP), desempenhando um papel importante no transporte dos vRNPs entre o núcleo e o citoplasma. Também está envolvida na montagem dos vRNPs.

7 *	Glicoproteína de Superfície	A proteína da matriz 2 (M2) atua como um canal iônico de membrana localizado dentro das bicamadas lipídicas do vírus, onde facilita o processo de acidificação necessário para a liberação do virion em brotamento.
8	Proteína Não Estrutural	A proteína não estrutural 1 (NS1) desempenha um papel crítico na replicação viral e na patogênese. Ela suprime o processamento do mRNA celular e impede a exportação nuclear do RNA celular poliadenilado. Além disso, inibe a resposta imune inata do hospedeiro, particularmente o sistema de interferon (IFN) do tipo I, promovendo assim a replicação viral eficiente e a disseminação viral de célula para célula.
8 *	Glicoproteína de Superfície	NEP, em conjunto com M1, facilita a exportação nuclear dos complexos vRNP para o citoplasma das células infectadas.

FONTE: ADAPTADO DE OLADUNNI ET AL, 2021

A variabilidade dos *Alphainfluenzavirus* resulta da acumulação de mudanças moleculares nos oito segmentos de RNA, que podem ocorrer por meio de diversos mecanismos, incluindo mutações pontuais (deriva antigênica), rearranjo gênico (mudança genética), partículas defeituosas interferentes e recombinação de RNA. Cada um desses mecanismos pode contribuir para a evolução dos vírus da influenza. (WEBSTER, 1992). Os principais alvos dos anticorpos neutralizantes são as glicoproteínas de superfície (DALY, ET AL 2011), sendo HA e NA os principais alvos de anticorpos protetores induzidos pela infecção e vacinação.

A variação desses segmentos HA e NA, permitem não somente variação antigênica, mas também classificação em subtipos de acordo com a sua reatividade antigênica. (FOUCHIER ET AL., 2005).

Sendo divididos em dois subgrupos de acordo com a HA e NA presentes. São 18 subtipos diferentes de HA E 11 subtipos diferentes de NA descritos, que são nomeados de H1 a H18 e N1 a N11. (CDC, 2023).

Embora tenham sido descritos mais de 130 subtipos de *Alphainfluenzavirus* na natureza, primariamente de aves silvestres, existem potencialmente muitas outras combinações, devido à propensão dos vírus influenza realizarem o rearranjo genético, que é a capacidade de troca de segmentos genéticos, que ocorre quando dois vírus influenza infectam um mesmo hospedeiro ao mesmo tempo, trocando material genético. (CDC, 2023). Através dessa propensão ao rearranjo e da complexidade na ancestralidade dos subtipos dos *Alphainfluenzavirus*, acredita-se que o subtipo H3N8 causador da Influenza Equina, possua genes que divergiram de vírus influenza aviária no fim do século dezenove. (OKAZAKI ET AL.1989).

4.3 INFLUENZA EQUINA

A Influenza Equina ou gripe equina, ocasionada principalmente pelos *Alphainfluenzavirus* subtipos H7N7 e H3N8, emerge como uma das mais proeminentes doenças respiratórias enfrentadas pelos equídeos, exercendo considerável impacto econômico e representando uma séria ameaça para a indústria equina. (COSTA E MERCHAN-HAMANN, 2016).

Análises filogenéticas sugerem complexidade na ancestralidade dos vírus H3N8 VIE, em que genes PA e NP divergiram de vírus da influenza aviária no fim do século XIV (OKAZAKI ET AL., 1989).

Sua natureza altamente contagiosa e rápida propagação entre cavalos, mulas e asininos, disseminada de forma endêmica globalmente, justifica sua classificação como um dos patógenos mais significativos nesse contexto, desencadeando sintomatologia respiratória aguda. (DALY, 2021; GONZALEZ-OBANDO ET AL., 2022; WOAH, 2021).

Os sinais clínicos característicos da Influenza Equina incluem tosse seca e áspera, febre e secreção nasal serosa, evoluindo para um estado mucopurulento, contribuindo para sérias perdas financeiras na criação dos equídeos e eventos equestres, devido ao comprometimento da saúde e desempenho dos animais (DULBECCO & GUNSBERS, 1988; A.L. WOODWARD ET AL., 2014).

Sinais clínicos, combinados à capacidade de transmissão rápida do vírus, causam perturbações significativas nas indústrias de corrida e reprodução equina, demandando medidas rigorosas tanto para o controle, quanto para a prevenção. (WHITLOCK ET AL., 2022)

A dinâmica da transmissão pode ser determinada por fatores do virais, do hospedeiro e do ambiente. As fontes comuns para a transmissão incluem chegadas recentes de animais, aglomerações temporárias de populações diferentes como ocorrem em eventos, competições, viagens internacionais, além da movimentação de pessoas que trabalham com os equídeos em populações diferentes e o compartilhamento de equipamentos contaminados. (WHITLOCK ET AL., 2022)

Os custos associados à prevenção e contenção de surtos de Influenza Equina são substanciais, como evidenciado por um estudo realizado por (SMYTH ET AL., 2011), um custo de cerca 673 milhões de reais gastos para erradicar o surto ocorrido na Austrália no ano de 2007.

Não somente os custos são desafiadores para o controle de doença, mas também a identificação precoce dos subtipos H7N7 e H3N8 em cavalos desde o século XX apontam para

a persistência desses agentes virais, destacando a importância contínua da vigilância e pesquisa para aprimorar as estratégias de controle (SOVINOVA ET AL., 1958; FAVARO, 2017; WADDEL ET AL., 1963).

4.3.1 Evolução dos vírus H3N8 da Influenza Equina

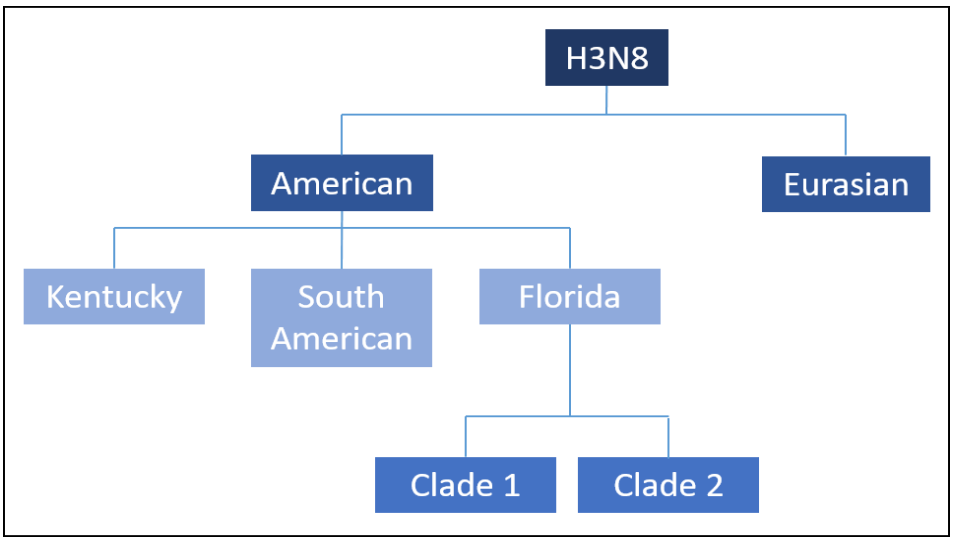
Dois subtipos de *Alphainfluenzavirus* são conhecidos por terem infectado cavalos, sendo eles H3N8 e H7N7. O H7N7 equino foi isolado pela primeira vez em 1956, e o H3N8 equino surgiu em 1963, disseminando-se globalmente nos dois anos seguintes. Entre 1963 e o final da década de 1970, ambos os subtipos co-circularam em cavalos, e o rearranjo ocorreu entre eles, indicando a ocorrência de infecções mistas (ITO ET AL., 1999).

O subtipo H3N8 é dividido em sub linhagens (FIGURA 2) a linhagem americana (The American lineage) que posteriormente se dividiu em Kentucky, Sul Americana e Florida. Flórida é dividida em clados 1 (FC-1) e 2 (FC-2). (LAI ET AL., 2001). Embora os vírus do clado 1 (FC1) predominem na América, eles também se espalharam e causaram surtos na Europa, Austrália, África e Ásia.

Os vírus do clado 2 (FC-2) foram isolados na Europa, partes da África e Ásia (LANDOLT, 2014), já tendo sido documentados, mesmo que poucos, casos de exposição ocupacional ao vírus de IE em humanos (ALEXANDER & BROWN, 2000)

Atualmente o vírus do subtipo H3N8 circula principalmente em todo o mundo, sendo a América do Sul considerada a origem da disseminação do H3N8 para outros países (PERGLIONE ET AL., 2016).

FIGURA 2: UC DAVIS: EIV H3N8 linhagem americana e eurasiana.



FONTE: YOUNG, 2019

4.3.2 Distribuição da Influenza Equina no mundo e no Brasil

A Influenza Equina é considerada endêmica em todo o mundo, sendo considerada pelo WOAH, enraizada por todo mundo, exceto na Nova Zelândia e Islândia e Austrália, onde as populações de cavalos permaneceram livres da doença. Países como Austrália e África do Sul conseguiram erradicar a IE após surtos, mas na Europa, América do Norte e do Sul, e Ásia, ela permanece endêmica (OLADUNNI, 2021).

Distribuída por todo o mundo e se manifestando em formas de surtos em várias regiões, a doença pode ser analisada através da sua distribuição no mundo e no Brasil.

4.3.2.1 Influenza Equina no mundo

Grandes epidemias ocorreram no mundo desde a primeira detecção da transmissão do vírus H3N8 em cavalos no início dos anos 60. Em algumas situações essa condição ocorreu em populações imunologicamente suscetíveis como ocorrido no ano de 2003 na América do Sul e em 2007 na Austrália. (ALVES BEUTTEMMÜLLER. ET AL., 2012)

De acordo com a Organização Mundial da Saúde Animal (WOAH, 2022), entre os anos de 2020 e 2022, foram relatados surtos de Influenza Equina na África, Ásia, América do Norte e do Sul, Oriente Médio e Europa. Os vírus da Influenza Equina A (H3N8) foram isolados e/ou caracterizados a partir de surtos na China, França, Irlanda, Israel, Suécia, Reino Unido, Canadá e Estados Unidos da América. Na Europa, surtos esporádicos foram reportados na Bélgica, Estônia, Finlândia, França, Alemanha, Irlanda, Itália, Países Baixos, Suécia e no Reino Unido.

O quadro abaixo representa os maiores surtos de Influenza Equina no mundo, o que evidencia a distribuição mundial dos vírus causadores da Gripe Equina.

QUADRO 2: Linha do tempo dos maiores surtos de Influenza Equina dos séculos 20 e 21 no mundo.

PAÍS ou REGIÃO	ANO
Estados Unidos e Canadá	1963
Japão	1971
Malásia	1977
Reino Unido	1979
África do Sul	1986
Índia	1987
Reino Unido	1989
China	1989
Nigéria	1991
Hong Kong	1992
Estados Unidos	2004
Austrália	2007
Índia e Asia Central	2008
América do Sul e Ásia Central	2011–2012

FONTE: ADAPTADO DE SACK ET AL,2019

4.3.2.2 Influenza Equina no Brasil

A Influenza Equina é, de acordo com a WOAH, uma enfermidade de notificação obrigatória e mensal de casos confirmados em todo o mundo, o que obriga relatar a ocorrência dessa doença à Organização Mundial de Saúde Animal, porém não há na legislação de defesa sanitária animal brasileira um plano de ação para essa enfermidade em caso de surto confirmado.

A Influenza Equina pode ser controlada pela vacinação, mas tem sido demonstrado repetidamente no campo que a deriva antigênica afeta a eficácia da vacina. A vigilância de IE mantém a consciência da emergência e disseminação internacional de variantes antigênicas. Não serve apenas como um sistema de alerta precoce para proprietários de cavalos, treinadores e clínicos veterinários, mas é fundamental para programas de controle da influenza baseados na vacinação. (OLIVEIRA JR, 2018)

Os dados sobre surtos de IE e caracterização de cepas são revisados anualmente por um Painel de Vigilância de Especialistas, incluindo representantes da WOAH e da OMS.

Este painel faz recomendações sobre a necessidade de atualizar as vacinas com base na análise de evidências de doenças em cavalos bem vacinados, alterações antigênicas, alterações genéticas e, quando possível, dados de desafio experimental. No entanto, a disparidade no nível de vigilância e coleta de vírus em diferentes países resulta em informações potencialmente tendenciosas sobre a prevalência relativa de diferentes vírus, o que ressalta ainda mais a

necessidade de maior vigilância em nível global e maior conscientização sobre os benefícios da atualização das vacinas (CULLINANE ET AL., 2010)

A Influenza Equina é considerada endêmica no Brasil, se manifestando comumente através de surtos (FAVARO E RICHTZENHAIN,2015), sendo uma doença autolimitante em que não é possível detectar a presença do vírus em cavalos que tenham se recuperado da doença. Acredita-se que a IE se mantém de forma endêmica nas populações em situações que cursem com baixa circulação viral, causando pequenos surtos ocasionais, que contribuem para a manutenção do vírus nas populações. (GLASS ET AL.,2002)

A primeira detecção da IE causada pelo vírus H3N8 no país ocorreu no ano de 1963. (FAVARO E RICHTZENHAIN, 2015) e os surtos que ocorrem no país são notificados à WOAH. De 2005 até 2014 foram reportados à WOAH 2972 casos, sendo estes espalhados por todo território brasileiro.

A tabela abaixo separa os casos reportados por anos, números de casos e número de mortes que constam na WOAH.

TABELA 1: Número de casos brasileiros reportados à WOAH no período de 2005 a 2014

ANO	CASOS	MORTES
2005	231	2
2006	438	4
2007	162	1
2008	272	0
2009	185	0
2010	3	0
2011	62	0
2012	1382	0
2013	12	2
2014	225	0
TOTAL	**2972**	**9**

FONTE: WOAH, 2024

De acordo com a WOAH, em 2012 no Brasil ocorreram 29 surtos da doença gerando um total de 1382 casos e duas mortes em equídeos, na ocasião foi realizada a caracterização do vírus causador do surto, que envolveu o Brasil e países da América do Sul, tais como Chile, Brasil, Uruguai e Argentina.

O surto de 2012, de acordo com (ALVES BEUTTEMMÜLLER ET AL., 2016) iniciou-se no Chile, tendo o Brasil como segundo país a ser atingido, seguido do Uruguai e Argentina.

O vírus responsável pelo surto foi caracterizado através das suas sequências de HA em Rio Grande Do Sul/1/12, sendo pertencente ao clado FC1 (Florida Clado 1).

No ano de 2015, entre 16 de setembro a 25 de setembro, o Hospital Escola Veterinário da Escola de Medicina Veterinária e Ciência Animal da Faculdade do Estado de São Paulo, experienciou um surto de IE em animais vacinados e não vacinados, que estavam internados no local. Haviam no momento 32 pacientes internados, 26 manifestaram sintomas respiratórios condizentes com a sintomatologia da gripe equina, apresentando febre, inapetência, descargas nasais, tosse seca, espirros e congestão das mucosas. (FAVARO, 2018)

As notificações de casos positivos e identificação do agente são importantes em qualquer parte do mundo, por ser ferramenta necessária na vigilância da doença, sendo de grande relevância no cenário brasileiro para entender como ela se distribui no país. Estudos de soroprevalência em equinos não vacinados que foram conduzidos ao longo dos anos são, assim como as notificações e identificação do agente causador do surto, ferramentas importantes para o entendimento e distribuição da doença no Brasil.

4.3.2.3 Soroprevalência no Brasil

No Brasil, os surtos da Influenza Equina são relatados desde 1963 e desde essa data estudos têm sido realizados para identificar a presença de anticorpos hemaglutinantes contra os subtipos virais nos equídeos brasileiros. (FAVARO E RICHTZENHAIN, 2015).

Títulos de inibição da hemaglutinação (HI) contra H3N8 e H7N7 foram detectados em soros de cavalos não vacinados nas regiões norte e nordeste do Brasil, em que 1344 foram testados para H3N8 e 718 animais testados para H7N7. Os títulos obtiveram variação entre 41,22% (H3N8) e 77,75% (H7N7) no Norte e entre 24,79% (H3N8) e 30,64% (H7N7) no Nordeste (PAGANO ET AL., 1985).

Na Cidade de Uruará, estado do Pará, um estudo que aconteceu em 1998, 81 amostras de soro de cavalos foram analisadas para quantificar anticorpos HI contra o H7N7 (A/equi/SP/1/1956) e o H3N8 (A/equi/SP/1/1985). As prevalências encontradas foram de 55,6% e 76,55%, respectivamente (HEINEMAN ET AL., 2009).

Aguiar e colaboradores, também em um estudo sobre a soroprevalência do vírus da Influenza Equina (H7N7 e H3N8), cujo objetivo era detectar anticorpos inibidores da hemaglutinação em cavalos em Monte Negro, estado de Rondônia, na região oeste da Amazônia brasileira, analisaram amostras de soro de 176 cavalos e mulas, encontraram uma prevalência de 19,9% para o H7N7 e de 42% para o H3N8. (AGUIAR ET AL., 2008).

A literatura traz em um estudo datado de 2009, que tinha o intuito de estabelecer a prevalência de anticorpos contra agentes virais em eqüídeos no sul do Estado de São Paulo

realizado por (CUNHA ET AL., 2009), soros de 163 equídeos (143 equinos e 20 muares) provenientes de 16 municípios do sul do Estado de São Paulo foram testados, o que demonstrou e prevalência de 2,7% para o vírus H7N7 e 11% para vírus H3N8.

Em 2002, estudo conduzido por LOUREIRO e seus colaboradores (2002) no estado do Rio de Janeiro, encontrou resultados de soroprevalência de 29.7% para o vírus A/Eqüino-2 (H3N8) em animais não vacinados.

Já em 2004, foi conduzida uma pesquisa em que se tinha como objetivo a análise da ocorrência dos vírus influenza A e B e a transmissão interespécies. Foram testadas amostras de vírus Influenza específico e não específicos nos equinos e na ocasião Mancini encontrou resultados na inibição da hemaglutinação para os vírus H7N7 e H3N8 com porcentagens de 62,75% e de 60,65% respectivamente. (MANCINI ET AL., 2004)

Prevalência de anticorpos para o VIE foram analisadas por (SILVA, ET AL.,2014) em amostras coletadas no estado do Mato Grosso, em animais que pertenciam ao município de Poconé, região do Pantanal Matogrossense. O vírus H3N8 (SP/1/85) foi utilizado como antígeno para analisar titulação de anticorpos no teste de inibição da hemaglutinação em 529 equídeos que haviam sido coletados no ano de 2010 e estimou-se a prevalência de anticorpos para o vírus de 45,2% no município analisado. Os autores também afirmaram que a elevada prevalência de anticorpos para o vírus detectada no estudo sugeria uma circulação viral ativa entre os animais, e as análises estatísticas indicaram que o trânsito e aglomeração animal devido à fatores inerentes a realidade do Pantanal, como por exemplo, as épocas alagadas em que os animais se aglomeram, seriam fatores associados à transmissão do vírus na região. (SILVA ET AL., 2014)

Amostras de equídeos não vacinados provenientes do estado de São Paulo e de Mossoró - Rio Grande do Norte, testadas por (FILLPSEN, 2013) por métodos sorológicos para H3N8 e H7N7, resultados positivos obtidos na inibição da hemaglutinação para H3N8 foram de 100% nos equídeos de São Paulo. Nas amostras de Mossoró, resultados de soropositividade para equinos e asininos foram de 94,7% e 88,9% respectivamente. Na ocasião, o número de cavalos testados do estado de São Paulo foi de 84 e da cidade de Mossoró, 57 equinos e 174 asininos.

Em uma tese para obtenção de título de doutor escrita por OLIVEIRA JÚNIOR (2018) em que seu objetivo era o de contribuir para vigilância da Influenza Equina no Pantanal Sul Matogrossense, resultados de HI para vírus H3N8 de 953 animais, em que 721 eram equinos e 232 muares, foi obtido resultados de prevalência agregada, ou seja, equinos e muares, foi de 8,8%. Dos 40 rebanhos estudados, foi visto que em 50% deles havia pelo menos um animal positivo.

Realizado por (DALY ET AL.,2021), um estudo retrospectivo de soroprevalência para Influenza Equina em amostras de 850 cavalos, coletadas entre os anos de 2005 e 2017, provenientes dos estados de: São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Mato Grosso, Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, e Rondônia, foi encontrado um percentual de 44,7% de cavalos sororreagentes para o vírus A/equine/Richmond/1/07 (H3N8) em testes de hemólise radial simples.

Análises de sorologia para vírus da Influenza Equina em pesquisas de anticorpos no teste de inibição da hemaglutinação estão dispostas no quadro 3.

QUADRO 3: Estudos sorológicos de subtipos virais da Influenza Equina

Autoria	Subtipo	Pesquisa de anticorpos no teste de HI (%)	Estado	Histórico de vacinação
Pagano et al. (1985)	H7N7f H3N8g	77,75 41,22	AP, PA, RR, AM, AC e RO	nv
	H7N7f H3N8g	30,64 24,79	CE, PB e PE	nv
	H7N7 H3N8g	61,72 42,06	RJ	nd
	H7N7f H3N8	31,68 42,91	PR e RS	nd
Loureiro et al., (2002)	H3N8a	29,7	RJ	nv
Silva et al., (1999)	H3N8a H3N8e	30 42	MT/MS	nd
Mancini et al., (2004)	H3N8d H7N7c	33,33 55,55	SP	nv
Oliveira et al., (2005)	H3N8a	35,9	RJ	nv
Diel et al., (2006)	H3N8b	65,4	RS	nd
Pena et al.. (2006)	H3N8b	35,79	PA	nv
Aguiar et al., (2008)	H7N7c H3N8d	19,9 42	RO	nv
Heinemann et al., (2009)	H7N7c H3N8d	55,6 76,5	PA	nv
Cunha et al., (2009)	H7N7c H3N8d	2,7 11	SP	nv
Filippsen et al., (2012)	H3N8d	54	PA/RN/SP	nd
Fillipsen., (2013)	H7N7c H3N8d H3N8d	91.66 100 90.04	SP RN	nd nv
Mancini et al., (2014)	H7N7c H3N8d	98.6 97.22	SP	nv
Silva et al., (2014)	H3N8d	45.2	MT	nv

FONTE: ADAPTADO DE FAVARO E RICHTZENHAIN 2015

Legenda: a: A/eq/2/Miami/63, b: A/eq/Santa Maria/2/88, c: A/eq/SP/56, d: A/eq/SP/1/85; e: A/eq/Fontainbleau/2/1989, f: A/eq/RJ/76, g: A/eq/GB/69 ND: não descrito; nv: não vacinado; nd: não disponível.

Poucos são os estudos com dados de levantamentos sorológicos em populações de equinos assintomáticos em várias localidades no Brasil, mas mesmo sendo pouco em volume, sugerem que a infecção com o vírus da Influenza Equina se manifesta em situação endêmica. (FAVARO E RICHTZENHAIN, 2015).

Sugestões sobre a doença e sua distribuição, foram alcançadas não somente em estudos sorológicos conduzidos com animais assintomáticos, mas também em estudos conduzidos durante surtos como o realizado por (FAVARO E RICHTZENHAIN, 2015).

Além de poucos estudos sorológicos, que influenciam na vigilância, o número de estudos de caracterização do vírus no Brasil é quase nulo, com exceção dos conduzidos por VILLALOBOS ET AL., 2013 e FILIPPNSEN ET AL., 2015).

4.3.3 Transmissão

Em cavalos, a infecção leva a doença respiratória e é disseminada por aerossol, duas linhagens de influenza A H3N8 são as maiores responsáveis. (CRAWFORD, P. C. ET AL., 2006).

Segundo World Organization for Animal Health (WOAH), por sua natureza altamente contagiosa, o VIE é disseminado através do contato com animais infectados, sendo a tosse uma forma de excreção do vírus. Os animais podem começar a excretar o vírus quando manifestam febre mesmo antes de apresentarem outras sintomatologias clínicas.

A transmissão do vírus também pode ocorrer através de mecanismos mecânicos de transmissão através de materiais contaminados (fômites) como roupa, equipamentos, escovas que são utilizados por profissionais que trabalham com os equídeos. (WOAH, 2022)

Um animal doente que adentre uma região que possua população suscetível à doença, faz com que ela se espalhe rapidamente sendo capaz de causar surtos, por isso, aglomerações e eventos podem ser fatores de risco para o surgimento de surtos. (WOAH, 2022)

4.3.3.1 Transmissão e interação entre espécies

Infecções causadas por vírus da Influenza Equina, não se limitam apenas aos equídeos. Estudos relatam que cães se infectaram no Reino Unido e na Austrália (SACK ET AL., 2019; CRAWFORD ET AL., 2005; DALY ET AL., 2008).

Nos Estados Unidos, em 2004, identificou-se que uma variante do H3N8 equino foi o agente causador de uma epidemia de doença respiratória severa em cães, marcando a primeira

evidência de tal transmissão interespécies para cães e que circula em alta transmissibilidade em abrigos de cães (CRAWFORD ET AL., 2005).

Durante o surto de IE que aconteceu na Austrália em 2007, houve também surto simultâneo de influenza em cães (CRISPE ET AL 2011). Gatos foram infectados experimentalmente com vírus H3N8, apresentando sintomas respiratórios, com excreção viral e transmissão para outros gatos (SU ET AL., 2014)

Um dos surtos mais graves de Influenza Equina ocorreu na China e envolveu uma cepa de VIE relacionada a uma cepa aviária H3N8. Esse surto teve uma taxa de mortalidade de aproximadamente 20% (GUO ET AL., 1992), mas o vírus não se manteve na população equina.

Uma relação próxima entre essa cepa observada de VIE e as cepas aviárias H3N8 da época levantam preocupações de que novos vírus influenza de origem aviária altamente virulentos possam se adaptar aos cavalos e causar altas taxas de mortalidade no futuro. (GU ET AL., 1995)

A transmissão do vírus H3N8 equino para outras espécies, resultou em infecções em cães, (CRAWFORD ET AL., 2005) suínos (GU ET AL., 2009), gatos, (SU ET AL,2014) já tendo sido documentados, em humanos, mesmo que poucos, casos de exposição ocupacional ao vírus da IE (ALEXANDER & BROWN, 2000). Evidências como estas demonstram a capacidade do vírus de romper as barreiras entre diferentes hospedeiros. Mesmo que os relatos de infecção humana pelo VIE sejam raros e escassos, o risco de zoonoses e de infecções cruzadas entre espécies é reconhecido. (KASEL&COUCH, 1969; BERRIOS, 2005; CRAWFORD ET AL., 2005; ALEXANDER & BROWN, 2000).

4.3.4 Patogenicidade

A hemaglutinina (HA) é uma proteína de membrana, caracterizada por ser uma glicoproteína de superfície. É o principal antígeno da superfície dos vírus influenza. Ela é responsável por ligar e fundir o vírus à célula hospedeira. (WEBSTER, 1998)

A nível celular, a replicação viral do vírus influenza, se dá em sua maioria nas células respiratórias dos humanos e mamíferos e em células intestinais das aves. O ciclo celular ocorre após o vírus se ligar à célula alvo. A ligação é mediada pela HA, que se liga aos ácidos siálicos presentes nas glicoproteínas de superfície e que também é responsável pela hemaglutinação causada pelas partículas virais quando incubadas em hemácias. HAs de vírus influenza em humanos e em equinos se ligam preferencialmente em receptores siálicos α2,6 e a maioria dos vírus influenza aviária se ligam em receptores α2,3. (YAMADA, 2006 E VAN RIEL, 2006).

Após a ligação, o vírus é internalizado no endossoma da célula, que sofre alterações como por exemplo no pH, que ativa alterações conformacionais nas HA virais que induzem a fusão do envelope viral à ao endossoma da célula hospedeira. (KRAMMER, 2018).

Dentro da célula do hospedeiro, a replicação viral acontece promovendo a liberação da progênie viral da célula hospedeira, se espalhando rapidamente pelo trato respiratório. A morte celular é causada pela replicação celular principalmente em função do apoptose que ocorre. (LIN ET AL., 2001)

A neuraminidase (NA) é uma glicoproteína de superfície, o segundo principal antígeno de superfície, que se acredita estar envolvida em papéis importantes tais como a clivagem da ligação do ácido siálico, gerando redução do ácido siálico presente no muco, causando diminuição da viscosidade da mucina facilitando o acesso às células epiteliais. São reconhecidas também por facilitar a saída das progênies geradas pela replicação, facilitando a disseminação do vírus no hospedeiro (AIR GM, 1989; WEBSTER, 1998)

A redução da depuração mucociliar, além da ruptura das camadas superficiais do epitélio respiratório cursam com a predisposição do o animal infectado ao desenvolvimento de infecções secundárias, como broncopneumonia bacteriana (NICHOLSON ET AL., 1998), isso se deve ao fato do Vírus da Influenza se conectar à célula epitelial respiratória, penetrando através do processo de endocitose mediada por receptores.

A HA e a NA são altamente mutáveis sendo essas mutações em resposta à pressão imunológica realizada pelo hospedeiro. (WEBSTER, 1998).

4.3.5 Sinais clínicos

Os sintomas causados pela infecção pelos VIE (H7N7 e H3N8), embora similares, se apresentam de forma mais severa quando a infecção é causada pelo H3N8. O VIE se espalha pelo trato respiratório, causando danos nas células epiteliais respiratórias devido a apoptose induzida pelos vírus, comprometendo a depuração mucociliar do animal infectado, predispondo a infecções bacterianas secundárias. (LANDOLT, 2014)

O período de incubação do vírus usualmente depende do status imunológico dos animais, podendo variar de 18 horas a 5 dias (em situações experimentais) e pode ser muito curto (24 horas) em animais nunca expostos ao VIE (CULLINAE & NEWTON, 2013).

A febre é o primeiro sintoma presente, com picos de temperatura corporal entre 48 e 96 horas após a infecção. Um segundo pico de febre pode ocorrer aproximadamente 7 dias após a infecção. Anorexia, letargia, descarga nasal e tosse são sintomas comuns. Inicialmente a

secreção nasal se apresenta de forma serosa, que posteriormente pode se tornar mucopurulenta. Tosse seca, áspera e persistente pode ocorrer, contudo a tosse pode persistir por vários dias podendo levar até seis meses para que os cavalos voltem ao seu potencial máximo. Casos com baixa gravidade tendem a se resolver entre 1 a 2 semanas. Sem o descanso adequado, os sintomas clínicos dos animais podem perdurar. (LANDOLT, 2014; DALY ET AL., 2021, WOAH, 2024.)

Em primeiras infecções, os três sintomas mais comuns da IE são: febre (picos de 42°C), secreção nasal serosa a mucopurulenta e tosse seca. Outros sintomas incluem depressão, anorexia, mialgia, edemas de membros e aumento de linfonodos submandibulares. Alterações hematológicas não específicas incluem anemias, leucopenia e linfopenia. (DALY ET AL, 2011)

Segundo a WOAH, entre os anos 2020 e 2022, os principais sintomas encontrados em populações não vacinadas incluíram febre, secreção nasal, tosse, linfadenopatia conjuntivite e letargia.

Embora raramente fatal, as complicações como pneumonia são comuns, levando a quadros longos de debilidade em cavalos, e a morte pode acontecer devido à pneumonia, especialmente nos potros (WOAH, 2024)

Se um cavalo possuir algum nível de imunidade contra o VIE, seja por vacinação ou infecção prévia, a imunidade gerada tende a reduzir a gravidade da doença ou resulta em um animal sem sinais clínicos, mas que ainda sim é capaz de excretar o vírus, caracterizando as infecções subclínicas (THOMAS CHAMBERS, 2022)

4.3.6 Diagnóstico

O diagnóstico de uma infecção por IE geralmente é alcançado através da identificação de antígenos virais ou material genético contido em amostras de swab nasal. No entanto, o vírus pode ser detectado indiretamente através de ensaios sorológicos que destacam a presença de anticorpos para IE no soro de um indivíduo.

Comparações entre amostras agudas e convalescentes (coletadas no início dos sinais clínicos e cerca de 2 semanas depois) são necessárias para determinar a recente soroconversão. O diagnóstico sorológico é um complemento útil para testes diretos de antígenos virais ou material genético para confirmar se a influenza é a causa da doença.

A replicação viral é transitória e, portanto, a detecção viral pode não ser mais possível quando os sinais clínicos começam a ser aparentes, especialmente em animais parcialmente

protegidos pela vacinação. Quando a vacinação é empregada, os ensaios sorológicos podem indicar possíveis casos de falha vacinal. (KINSLEY ET AL., 2016)

A WOAH em seu Manual de Testes Diagnósticos e Vacinas para Animais Terrestres, elenca as diversas possibilidades para o diagnóstico da Influenza Equina. Sendo elas compiladas em uma tabela, sendo separados por diagnósticos diretos (em que se tem a detecção do vírus ou parte conservada) ou indiretos (teste sorológicos).

A finalidade e o propósito para utilização de cada método diagnóstico são previstos pela WOAH, de acordo com a tabela abaixo, direcionando qual o melhor teste diagnóstico deve ser utilizado para cada ocasião.

QUADRO 4: Métodos disponíveis para o diagnóstico da Influenza Equina.

	Finalidade					
Método	População livre de infecção	Animal livre de infecção antes do trânsito	Contribuição para políticas de erradicação	Confirmação de casos clínicos	Vigilância - Prevalência de Infecção	Estado Imune pós vacinação – indivíduo ou população
	Identificação do Agente[1]					
Isolamento Viral	–	+	–	++	–	–
Real time RT-PCR	–	+++	+++	+++	+++	–
RAD	–	+	–	++	+	–
Captura de Antígeno ELISA	–	++	++	+++	++	–
	Identificação resposta imune					
IH	++	++[a]	–	+++[a]	+++	++
SRH	++	++[a]	–	+++[a]	+++	+++
ELISA	++	+	++[b]	+a	+++	+

FONTE: ADAPTADO DE WOAH TERRESTRIAL MANUAL, 2019

Legenda: +++ método recomendado; ++ = método adequado; + = pode ser utilizado em algumas situações, mas o custo, confiabilidade ou outros fatores limitam severamente sua aplicação; - = não apropriado para este fim.
Embora nem todos os testes listados como categoria +++ ou ++ tenham passado por validação formal, sua natureza rotineira e o fato de terem sido amplamente utilizados sem resultados duvidosos os torna aceitáveis.
RT-PCR = reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa; RAD = detecção de antígeno rápido; HI = inibição da hemaglutinação; SRH = hemólise radial única; ELISA = ensaio imunoenzimático.
a Teste de amostras em pares requerido; b pode ser útil para DIVA (detecção de infecção em animais vacinados) quando usado com vacinas apropriadas.

4.3.6.1 Hemaglutinação e inibição da hemaglutinação.

Descrito pela primeira vez por Hirst 1941, o fenômeno da hemaglutinação pelo vírus da influenza ocorreu em ovos inoculados com um tipo de vírus influenza, em que durante a coleta do líquido alantóide, foi percebido a aglutinação de hemácias que foram liberadas no processo da coleta.

A partir desse evento, foram desenvolvidos por testes de hemaglutinação (aglutinação de hemácias), conhecidos pela sigla HA , que tinham como premissa evidenciar a presença de

vírus capazes de realizar a hemaglutinação e o teste de Inibição da Hemaglutinação reconhecido pela sigla IH ou HI, em que o objetivo é determinar a presença ou ausência de anticorpos inibidores da hemaglutinação viral, posteriormente às primeiras descrições estes testes passaram por diversos aprimoramentos (HIRST, 1942)

A glicoproteína de superfície hemaglutinina (HA), expressa na superfície do vírus, interage com receptores de ácido siálico nas superfícies das células, incluindo os glóbulos vermelhos. Esta interação entre o vírus da gripe e as hemácias resulta em hemaglutinação (Hirst,1942). Anticorpos direcionados contra o HA interrompem ou inibem esta interação. Assim, o ensaio HI quantifica os anticorpos capazes de prevenir a aglutinação de glóbulos vermelhos induzida pelo vírus.

O teste de inibição da hemaglutinação (IH) é um ensaio extremamente confiável para a tipagem, subtipagem e determinação das características antigênicas de isolados virais de influenza, desde que os anti soros de referência utilizados contenham anticorpos contra os vírus que estão atualmente em circulação. Entre as desvantagens deste teste estão a necessidade de remover inibidores inespecíficos de hemaglutinação que ocorrem naturalmente nos soros.

Contudo, o teste IH permanece como o ensaio de escolha para a vigilância global da influenza e para determinar as características antigênicas de isolados virais de influenza (OMS,2011), além de amplamente utilizado para a vigilância, caracterização, é também empregado em estudos epidemiológicos do vírus da influenza. (BIBBY ET AL., 2022).

4.3.7 Vacinação

A prevenção e controle da Influenza Equina baseiam-se principalmente em procedimentos de biossegurança e vacinação. (PARK ET AL., 2009)

A vacinação contra a Influenza Equina tem sido praticada desde a década de 1960, mas, apesar de as vacinas terem melhorado consideravelmente desde então, continuam a existir problemas relacionados à falha de eficácia em condições de campo (PARK ET AL., 2003). Modelagem matemática tem sido utilizada para demonstrar que a vacinação de cerca de 40% de uma população equina com uma vacina eficaz contra a gripe Equina reduzirá a transmissão do vírus suficientemente para proporcionar imunidade de rebanho. (PARK ET AL., 2009)

Adicionalmente, a vacinação raramente induz a mesma imunidade que a infecção natural, e os anticorpos induzidos pela vacina podem não persistir por muito tempo, o que é particularmente verdadeiro para vacinas baseadas em vírus inativado. A mesma modelagem que sugere a vacinação de 40% de uma população para garantir a proteção, demonstrou que,

quando há uma incompatibilidade antigênica entre a cepa da vacina e a cepa desafiadora, mesmo níveis muito altos de anticorpos podem não oferecer proteção, e mais animais devem ser vacinados para alcançar a imunidade do rebanho. (PARK ET AL., 2009)

Em contraste, vacinas que utilizam vírus vivo modificado e tecnologias de vetor recombinante (por exemplo, vacinas baseadas em vírus da varíola) estimulam respostas imunes humoral e celular, e mimetizam mais de perto a imunidade eliciada por infecção natural (PARK ET AL., 2009)

A imunização é reconhecida como uma estratégia eficaz no controle da Influenza Equina, assegurando proteção pela indução de anticorpos dirigidos às glicoproteínas virais de superfície, em particular à hemaglutinina (HA). A relevância dos anticorpos contra a neuraminidase (NA) no caso do vírus da Influenza Equina (VIE) é, contudo, menos evidente. No entanto, acredita-se que os anticorpos contra a NA da influenza humana desempenhem um papel na imunidade protetora, havendo uma associação entre títulos neutralizantes e a diminuição da excreção viral em modelos com pequenos animais (MURPHY ET AL., 1972; BRETT E JOHANSSON, 2005).

Nos países onde o vírus da Influenza Equina é endêmico, as perdas econômicas devido à influenza podem ser minimizadas pela vacinação de cavalos que estão frequentemente em circulação (CULLINANE, 2013). A Organização Mundial da Saúde Animal (WOAH) é responsável por recomendar quais subtipos virais devem ser incluídos na produção de vacinas para equídeos. Em julho de 2022, a WOAH, no Painel de Vigilância Especializado sobre a Composição da Vacina contra a Influenza Equina, orientou que não é necessário incluir o H7N7 ou vírus da linhagem Eurasiana nas vacinas, por não terem sido detectados por muitos anos na vigilância, entendendo-se que não estão circulando. Segundo a WOAH, as vacinas devem conter vírus da linhagem Florida, Clado 1 e Clado 2.

5 EQUIDEOCULTURA NO BRASIL

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em seu último censo de 2022, afirmou que o Brasil possui um rebanho de equinos composto por 5.834.544 cabeças, espalhadas por mais de 1.170.696 estabelecimentos (2017) no território brasileiro. Minas Gerais tem grande importância nesse setor, sendo o maior produtor de equinos do país em 2022.

Dados sobre a produção de asininos e muares apontam que existem 376.874 cabeças de asininos (2017) em 238.504 estabelecimentos, sendo o maior produtor o estado da Bahia (2017).

A Bahia também é o maior produtor de muares (mulas e burros), sendo o rebanho nacional composto por 615.498 cabeças distribuídas em 282.628 estabelecimentos, segundo o IBGE

A Revisão do Estudo Complexo do Agronegócio do Cavalo realizada pelo (MAPA, 2016), afirma que o agronegócio do cavalo deve ser analisado de forma mais complexa, por envolver vários setores de atividades, como indústrias farmacêuticas e de alimentação/nutrição animal. Pesquisas e laboratórios movimentam também o mercado, assim como as áreas de prestação de serviços, ferrageadores, equitadores, profissionais de lida direta com os equídeos, transportes e eventos.

Neste mesmo estudo, foi enfatizado a dificuldade em obter-se dados confiáveis sobre a equideocultura, trazendo que os dados mais recentes são as do Censo Agropecuário de 2006, que afirmava que a maior parte do rebanho de equinos (72%), é utilizado para trabalho e estão associados a outras atividades pecuária, como a criação de bovinos. As mesmas fontes dizem a respeito dos animais de tração e da necessidade de destacar sua relevância no cenário brasileiro, que por diversos motivo, mas destacando a escala de muitas propriedades e a declividade de algumas área, fazendo com que, a tração animal representa cerca de 25% da força total (animal e mecânica) utilizada nas propriedades rurais, tendo 3,9 milhões de equinos em atividades de lida.

Ainda sobre os animais de lida, o estudo afirma que são animais que tradicionalmente recebem poucos cuidados, em geral criados a pasto e que os cuidados recebidos quase se limitam às aplicações de vermífugos. Sobre o preço desses animais, o estudo aponta que seu valor possui um preço bem inferior ao que se costuma observar nos centros urbanos (em que se utiliza animais para lazer e esporte como referência), atingindo em média R$ 700,00 por animal.

5.1 PROGRAMA NACIONAL DE SANIDADE DOS EQUÍDEOS (PNSE)

Instituído em 2008 através da Instrução Normativa Nº 17, de 8 maio de 2008, pelo Ministério da Agricultura e Pecuária, o PNSE tem como objetivo o fortalecimento do complexo agropecuário dos eqüídeos, por meio de ações de vigilância e defesa sanitária animal. (MAPA, 2008), tendo como estratégias para prevenir erradicar e controlar as doenças dos equídeos as atividades de educação sanitária, estudos epidemiológicos, fiscalização e controle de trânsito de equídeos, cadastramento, fiscalização e certificação sanitária de estabelecimentos, intervenção imediata quando da suspeita ou ocorrência de doença de notificação obrigatória.

O sistema de vigilância epidemiológica proposto pelo PNSE, é fruto de um trabalho realizado em conjunto com os Sistemas de Vigilância Oficiais (SVO) em cada esfera, seja ela

federal, estadual e municipal, juntamente com a comunidade que é representada pelos proprietários de equídeos, veterinários e profissionais que atuam em laboratórios, instituições de ensino ou pesquisa agropecuária.

Preocupações com doenças de notificação obrigatória que são listadas pela WOAH, (QUADRO 5) são justificadas por se apresentarem como situações que possam vir a comprometer a sanidade do rebanho equídeo nacional, a economia, o meio ambiente ou que possam ser riscos para a saúde pública.

QUADRO 5: Doenças equinas de notificação obrigatória

Doenças de notificação obrigatória
Metrite Equina Contagiosa
Dourina
Encefalomielite Equina (Ocidental)
Anemia Infecciosa Equina
Piroplasmose Equina
Infecção por *Burkholderia mallei* (Mormo)
Infecção pelo vírus da doença do cavalo africano
Infecção pelo herpesvírus equino-1 (Rinopneumonite Equina)
Infecção pelo vírus da arterite equina
Infecção pelo vírus da Influenza Equina
Encefalomielite Equina Venezuelana

FONTE: WOAH,2022

O PNSE também dispõe a respeito do trânsito, transporte e aglomerações dos equídeos, que prevê a vacinação para Influenza Equina como obrigatória, sendo necessário o atestado de vacinação para a emissão da Guia de Trânsito Animal, permitindo o movimento dos animais para diferentes finalidades.

Em Minas Gerais, a Portaria 1270, de Maio de 2012, do Instituto Mineiro de Agropecuária, estabelece que a participação de equídeos em eventos e outras aglomerações está condicionada à apresentação de atestado de vacinação contra o Vírus da Influenza Equina, atestado de ausência de sintomatologia clínica de doença respiratória nos últimos 30 dias no estabelecimento de origem do animal, exames negativos para outras doenças de notificação obrigatória como Anemia Infecciosa Equina (AIE) e Mormo, seguindo as diretrizes do PNSE

A revisão sobre o estudo complexo do agronegócio do cavalo (MAPA, 2016), chama a atenção para a defesa animal e os desafios enfrentados, se apresentando com uma situação de grande complexidade, mas sendo possível identificar a escassez de recursos como uma das causas principais para as dificuldades enfrentadas para a defesa animal.

5.2 CARROCEIROS

Pela definição do dicionário Michaelis, carroceiro é definido como “condutor de carroça” ou “o que faz fretes com carroça".

Em Belo Horizonte os carroceiros fazem parte da dinâmica da cidade. Os equídeos são instrumento de trabalho e fonte de renda, sendo muitas vezes mantidos em terrenos próximos às moradas dos seus tutores e circulando de maneira frequente pela cidade. A proximidade desses animais com a população e com outros animais, além da livre circulação pela área urbana, devem ser levados em consideração ao analisar a dinâmica pelo prisma da vigilância e defesa animal.

Os animais utilizados para a atividade carroceira se enquadram nos animais utilizados para lida, força ou tração, sendo caracterizados por serem animais de baixo valor agregado e possuindo pouco cuidado quando comparados a animais que exercem outras funções no setor da equideocultura, tendo como referência o que foi abordado no Estudo Complexo do Agronegócio do Cavalo (MAPA, 2016)

A Comunidade Tradicional Carroceira de Belo Horizonte e Região Metropolitana relata que a atividade é formada por milhares de famílias que constroem suas vidas a partir do trabalho nas carroças, em conjunto com seus companheiros animais (cavalos, jumentos e mulas). A Associação dos Carroceiros e Carroceiras Unidos(as) de Belo Horizonte e Região Metropolitana (ACCBM), vê a atividade dos carroceiros não apenas como uma fonte de renda, é uma forma de vida em que o trabalho nas carroças realizado entre humanos e animais passa de geração para geração e mantém a vida das famílias.

FIGURA 3: Carroceiros de Belo Horizonte.

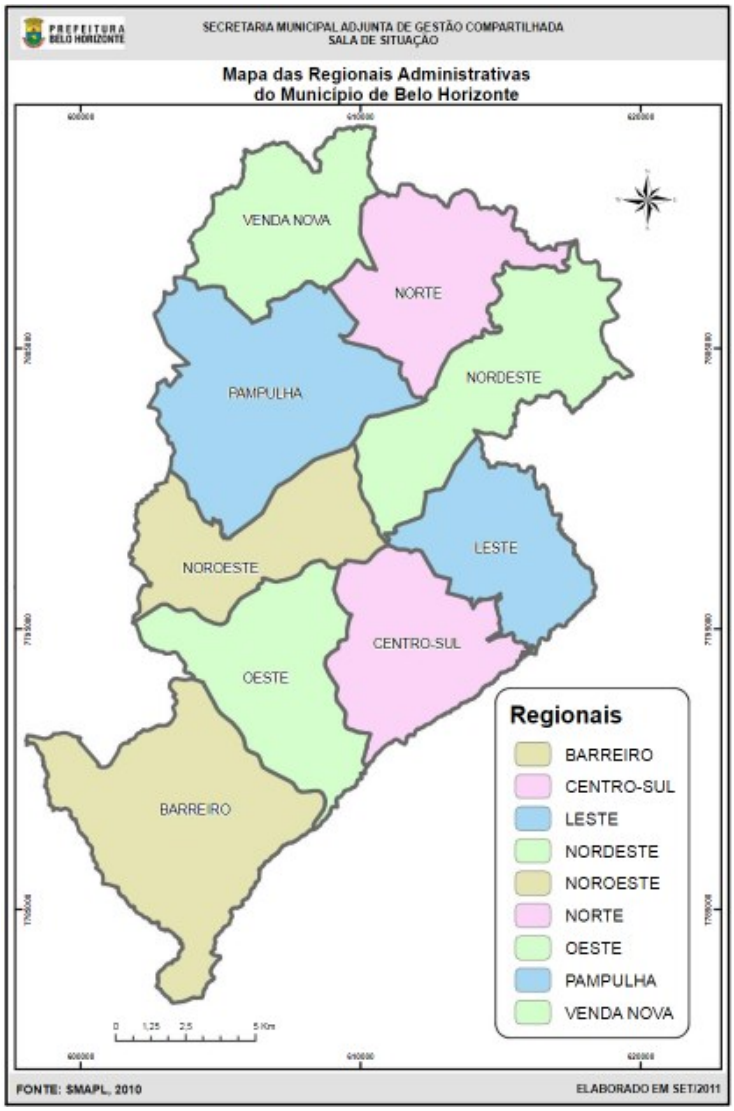
FONTE: BRASIL DE FATO MINAS GERAIS, 2021.

Desde a década de 1990, políticas públicas reconheceram a importância dos carroceiros a carroceiras para a vida nas cidades, como agentes ambientais, atuando em recolhimento de entulhos, restos de obras, resíduos fazendo o descarte dos materiais recolhidos em locais públicos que foram criados para que os carroceiros destinem de forma adequada os resíduos que transportam.

Estes lugares receberam diversos nomes, como Unidades de Recebimento de Pequenos Volumes (URPVs), em Belo Horizonte e na região metropolitana.

A Superintendência de Limpeza Urbana conta com 34 unidades ativas de (URPVs), distribuídas em 9 regionais, sendo elas Barreiro, Centro Sul, Leste, Nordeste, Noroeste, Norte, Oeste, Pampulha e Venda Nova.

FIGURA 4: Mapa das Regionais Administrativas de Belo Horizonte.



FONTE: SMAPL, 2010.

A Prefeitura de Belo Horizonte (PBH) relata que no ano de 2017 foram contabilizadas 300 mil viagens de resíduos até as (URPVs), entre elas de caminhonete, carrinho de mão e carroça de todas essas viagens, 160 mil eram de carroceiros, o que correspondia a 47% do total registrado. Ainda em 2017, foram recolhidas nas unidades 142 mil toneladas de resíduos.

No ano de 2023 foram recolhidas 138.710 toneladas de resíduos nas URPVs, em que os carroceiros tiveram participação no recolhimento dos resíduos.

De acordo com a Lei de Acesso à informação, a PBH relatou que ações de cadastramento são realizadas com os carroceiros em parceria com a (SLU) que conta com 251 carroceiros registrados e um total de 251 carroças emplacadas.

Dados a respeito do tamanho do rebanho de carroceiros em Belo Horizonte são escassos, mas sabe-se da importância e da complexidade da questão na região metropolitana.

Traçando um paralelo com o que ocorre em outros países, na China cavalos e jumentos coexistem em grandes populações em situações semelhantes à dos carroceiros, considerados como animais de trabalho que estão misturados com a população humana, sendo considerado um fator que aumenta a preocupação em relação ao estabelecimento dos vírus H3N8 nos jumentos, gerando risco em questões económicas do país. (H. YANG ET AL., 2017)

Na Nigéria, jumentos operam nos mercados locais fazendo transporte de humanos de vilas por toda a fronteira da Nigéria com a República de Níger, podem ter sido a explicação para a disseminação do surto enfrentado (SHITTU ET AL., 2020). Esses animais que fazem rotas para migração dos humanos entre a Nigéria e República de Niger, também são transportados e mantidos juntos, situação que se assemelha a dos carroceiros. No mesmo estudo conduzido por (SHITTU ET AL., 2020), ele chama atenção para a importância para introdução e reintrodução da Influenza Equina devido a características peculiares na agroecologia, comércio de animais vivos e produtos de origem animal dentro e fora das fronteiras

Pelas características da população carroceira atreladas a sugestão feita por (FAVARO E RICHTZENHAIN, 2015), que diz que o vírus da Influenza Equina está espalhado de forma endêmica pelo Brasil, estudos sorológicos em uma população não vacinada pertencente à uma região metropolitana, pode ser fundamental para validar o que foi sugerido e contribuir para a vigilância epidemiológica proposta pelo PNSE.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 AMOSTRAGEM

As amostras testadas fazem parte do banco de soro do Projeto Carroceiros, um projeto de extensão desenvolvido pelo Setor de Clínica de Equinos, da Escola de Veterinária da UFMG, desde 1997, em parceria com a Secretária de Limpeza Urbana da Prefeitura de Belo Horizonte. O projeto atua com os equídeos de tração em unidades de recolhimento de materiais reciclados que são distribuídos por toda a cidade de Belo Horizonte. O projeto promove ações que vão desde a conscientização dos carroceiros sobre como descartar os materiais até os cuidados básicos com a saúde dos animais.

Semestralmente, alunos da Escola de Veterinária, visitam as URPV (Unidades de Recebimento de Pequenos Volumes) representada na FIGURA 5, que são os pontos de encontro e de descarte dos materiais recolhidos pelos carroceiros e localidade que recebe a visita do projeto.

FIGURA 5: URPV Flávio de Oliveira em 2015

FONTE: ARQUIVO PESSOAL

Na data marcada é feita a imunização contra raiva nos equídeos de tração, além de realização de coleta de sangue e soro dos animais participantes do Projeto. Para que sejam identificados, os animais possuem número de cadastro, que é realizado pelos alunos e também são marcados com o número de cadastro para que a identificação seja facilitada. A Escola de Veterinária, através da Clínica de Equinos da UFMG, realiza também atendimentos veterinários para os animais do projeto sempre que necessitam de maneira menos onerosa e acessível.

O cadastramento, marcação e identificação estão exemplificados na FIGURA 6.

FIGURA 6: Visita à URPV Flavio de Oliveira em 2015

FONTE: ARQUIVO PESSOAL

Legenda: A: fichas de cadastro com documentos dos carroceiros B: Coleta de sangue na jugular. O sangue é processado e as amostras obtidas fazem parte do banco de soros. C: marcação com nitrogênio líquido. D: vacinação antirrábica

Apesar da existência de fichas de cadastro dos animais pertencentes ao Projeto Carroceiros, não foi possível ter acesso a informações como espécie, raça, idade. Não foi possível também ter acesso ao histórico em relação a atendimentos veterinários desses animais, o que dificulta a análise da situação de possíveis doenças infectocontagiosas que possuam

manifestações clínicas diagnosticáveis. Sabe-se que nessa população fatores econômicos podem ser dificultadores não somente para atendimento médico veterinário, mas também em execução de protocolos sanitários. Esses animais recebem durante o projeto somente a vacinação para a raiva, não sendo vacinados para Influenza Equina e os tutores desses animais não vacinam esses animais para a gripe devido ao custo alto as vacinas possuem para realidade em que estão inseridos.

O banco de soro do Projeto Carroceiros é composto de amostras coletadas durante visitas anuais em cada URPV.

Para o estabelecimento do perfil sorológico desses animais, as amostras pertencentes ao banco de soro do Projeto Carroceiros, coletadas durante 2010 e 2017 foram separadas e identificadas por ano. Após a separação das amostras de cada animal, todas as amostras viáveis passaram por testagem com objetivo de estabelecer o perfil sorológico dos animais no intervalo de tempo determinado.

As amostras utilizadas passaram por protocolo de tratamento e teste utilizado para confecção do perfil sorológico, foi o diagnóstico indireto de Inibição da Hemaglutinação e tratamento com Kaolin e hemácias de galo, com o objetivo de pesquisar anticorpos neutralizantes para o vírus H3N8, seguindo o preconizado no Manual de Testes Diagnósticos e Vacinas para Animais Terrestres, da WOAH edição 2019.

Devido ao longo tempo de armazenamento dessas amostras, muitas delas ressecaram, sendo então descartadas por não serem amostras viáveis para o teste, com isso, 745 soros foram testados.

6.2 SEPARAÇÃO E TRATAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras foram separadas de acordo com o ano em que foram coletadas. Foi realizado o descongelamento e a aliquotagem em que cada amostra recebeu a etiqueta de identificação que tinha 8 números. Os quatro primeiros relacionados ao ano da coleta e os 4 últimos sendo o número de identificação gerado pelo projeto.

FIGURA 7: Exemplo de etiqueta de uma amostra de 2012.

FONTE: DADOS DA PESQUISA

Todas as amostras viáveis passaram pelo processo de tratamento e as amostras desidratadas devido ao tempo de conservação foram descartadas.

6.3 INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO

O teste de inibição da hemaglutinação foi realizado de acordo com WHO (2002), com algumas modificações. Duzentos uL de soro foram inativadas a 56oC, durante 30 minutos e tratadas com caolim a 20% em solução tampão fosfato (PBS1x), 001M, pH 7,4, para remoção de anticorpos inespecíficos.

Após esse tratamento, foram feitas diluições em duplicata, seriadas na base 2, em placas de fundo "V" com 96 poços.

O vírus vacinal contendo 4 unidades hemaglutinantes (UHA) foi adicionado aos poços da placa.

Após 1 hora de incubação à temperatura ambiente, suspensão de hemácias de peru a 0,5% foram adicionados às placas.

Ao fim de 30 minutos, foi realizada a leitura. Títulos de anticorpos de cada amostra foram determinados como a recíproca da maior diluição na qual nenhuma hemaglutinação foi observada.

Amostras com títulos inibidores da hemaglutinação iguais ou maiores que 40 são consideradas positivas. Os títulos classificados em ≤ 20= negativo; 40-80= baixo; 160-320= médio; ≥640= alto.

6.4 VÍRUS

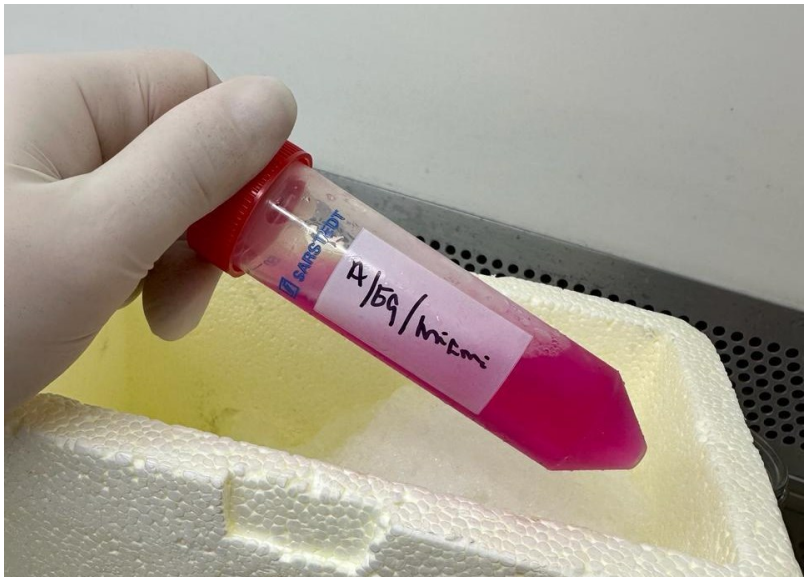
A amostra A/equine/Miami/69 é uma amostra vacinal, representante do subtipo viral H3N8 FC-1, que foi utilizado como antígeno viral no HI. Essa amostra foi gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Paulo Pelegrino do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

O vírus foi amplificado em linhagem contínua de células epiteliais Madin-Darby Canine Kidney Epithelial Cells (MDCK) no Laboratório de Pesquisa em Virologia Animal da UFMG (LPVA-UFMG), até atingir titulações e quantidade suficientes para realização do HI em todas as amostras testadas.

As células MDCK foram mantidas em garrafas de cultivo celular contendo meio DMEM e 10% de soro fetal bovino (SFB). Para a inoculação viral, foi utilizado meio de infecção contendo inóculo adicionado de 2µL/mL de Tripsina tratada com TPCK (Sigma-Aldrich) e albumina bovina (BSA) 10%. Após 24 a 48 horas de cultivo em estufa a 37ºC, o sobrenadante

foi coletado, clarificado por centrifugação a 5000 rpm durante 20 minutos e armazenado a -80ºC até o uso.

FIGURA 8: Alíquota do vírus H3N8 FC-1 A/EQUINE/MIAMI/69 utilizado após amplificação em células MDCK



FONTE: ARQUIVO PESSOAL

6.5 ANÁLISE DE DADOS E ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando o software estatístico R versão 4.0.3. As informações sobre diagnósticos positivos e negativos, bem como o grau de positividade em relação aos resultados de titulação, durante o período de 2010 a 2017, foram submetidas a análises descritivas, representadas em gráficos de barras para ilustrar as percentagens.

Para a comparação das proporções de casos positivos e negativos, empregou-se o teste não paramétrico de Exato de Fisher, com correção de Bonferroni. Quanto à análise comparativa dos anos em relação ao grau de positividade das amostras, foi utilizado o teste não paramétrico do Qui-quadrado, também com correção de Bonferroni. O teste estatístico foi feito assumindo um nível de significância de 5%.

No entanto, devido ao baixo tamanho da amostra em 2012 e à baixa frequência de amostras com "baixa titulação" em 2010, não foi possível realizar comparações estatísticas entre esses dois anos.

7 RESULTADOS

Foram testadas 745 amostras de equídeos de tração provenientes da região metropolitana de Belo Horizonte. Todas essas amostras são pertencentes à soroteca do Projeto Carroceiros da UFMG, coletadas nos anos de 2010 a 2017. A tabela 2 apresenta todas as amostras submetidas à HI, de acordo com cada ano testado

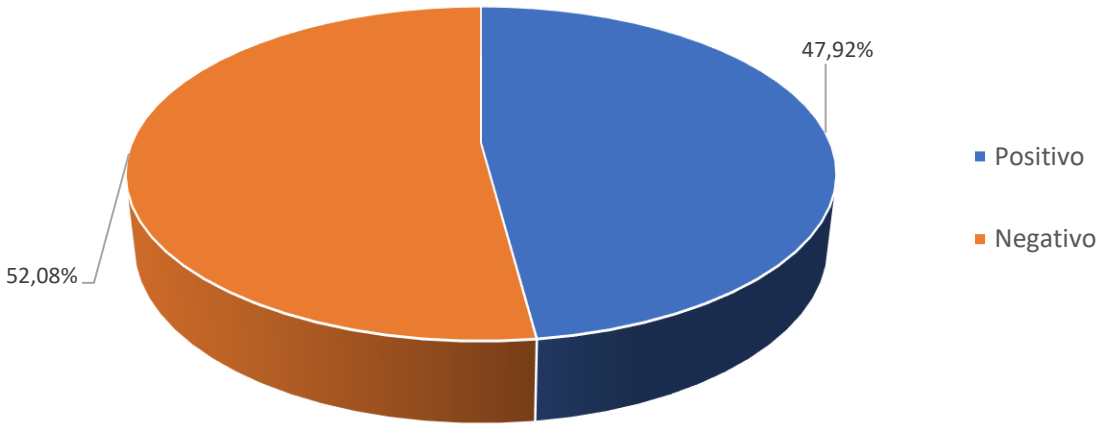
Das 745 amostras testadas, 357 amostras apresentaram resultado positivo, o que representa um percentual 47,92% de amostras positivas no teste de inibição da hemaglutinação, a proporção foi representada na tabela de proporção de diagnósticos positivos e negativos entre os anos de 2010 a 2017.

TABELA 2: Amostras submetidas à HI, de acordo com cada ano testado.

Ano	Número de amostras submetidas a HI
2010	117
2011	31
2012	3
2013	36
2014	104
2015	260
2016	110
2017	84
TOTAL	745

FONTE: DADOS DA PESQUISA

GRÁFICO 1: Proporção de diagnósticos positivos e negativos entre os anos de 2010 a 2017.



FONTE: DADOS DA PESQUISA

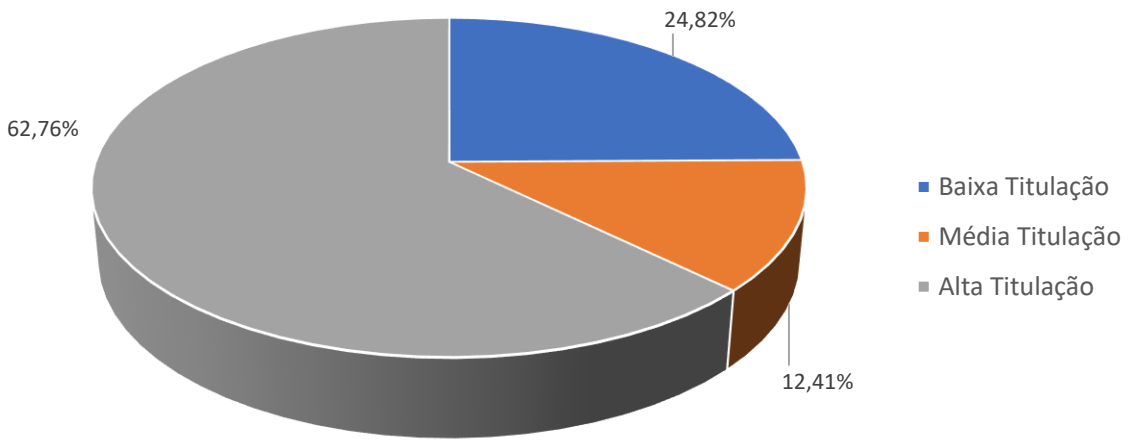
As variações das titulações também foram analisadas. Os títulos foram classificados em ≤ 20=negativo; 40-80=baixa; 160-320=média; ≥640=alta, obtendo-se resultados de que 62,76% das amostras positivas tiveram resultados de altas titulações, com titulação maior ou igual à 640.

Amostras com titulações com resultados medianos em relação a titulação representaram 12,41%, o que quer dizer que tiveram titulação entre 160 e 320.

Resultados de baixas titulações obtiveram resultados entre 40 e 80, o que representou 24.82% das amostras testadas.

Como representado na figura de proporção de diagnósticos positivos e as variações de titulação para os testes de HI nas amostras dos anos de 2010 a 2017.

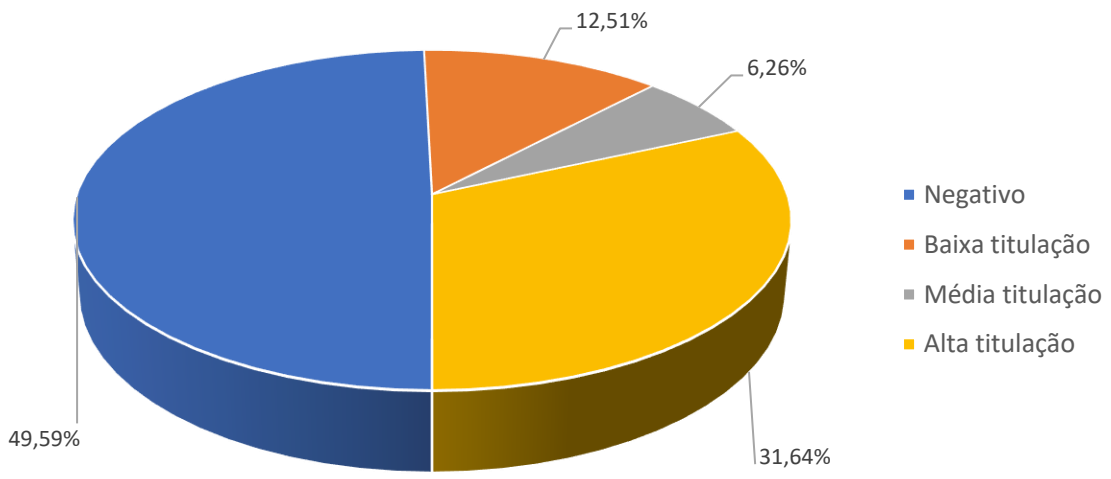
GRÁFICO 2: Proporção de diagnósticos baixa, média e alta titulação entre os anos de 2010 a 2017.



FONTE: DADOS DA PESQUISA

Foi possível também comparar as amostras negativas com as variações de baixa, média e alta titulação. Amostras negativas representaram 49.59% das amostras testadas e amostras fortemente positivas representaram 31.64% das amostras positivas, sendo demonstrada na figura de proporção de diagnósticos negativo, baixa titulação, média titulação e alta titulação entre os anos de 2010 a 2017

GRÁFICO 3: Proporção de diagnósticos negativos, baixa, média e altas titulações dos resultados das amostras testadas dos anos de 2010 a 2017.



FONTE: DADOS DA PESQUISA

Durante os anos de 2010 a 2017, houveram variações em quantidade de amostras testadas, soropositividade e titulação.

Em relação à positividade, as amostras obtiveram proporções podendo ser observada no gráfico de proporção de diagnósticos negativos e positivos entre os anos de 2010 a 2017 de: 2010 99.15% (116/117); 2011 96.77% (30/31); 2012 100% (3/3); 2013 (8/36) 22.22%; 2014 (86/104) 82.09%; 2015 (65/260) 25%; 2016 (40/110) 36.36% e 2017 (9/84) 10.71%.

Foi possível também analisar a variação das titulações obtidas em cada ano através do gráfico de distribuição de diagnósticos entre os anos de 2010 e 2017.

Em 2010 95,69% das reações tiveram altas titulações e 4.31% médias titulações. Em 2011, 93,55% tiveram altas titulações e 3.23% média e 3.23% baixa.

Em 2012 apresentou 100% resultados com altas titulações, valendo ressaltar que apenas 3 amostras foram testadas pertencentes a esse ano.

Em 2013 demonstrou de 50% dos positivos tiveram alta titulação, 8.33% média e 41,67% consideradas baixas titulações.

Das amostras de 2014 88,64% são correspondentes a altas titulações, 5.68% médias e baixas 25%.

Das titulações de 2015 foram titulações consideradas baixas, seguidas de 14.06% médias e 60.94% altas.

No ano 2016,63.33% das titulações foram altas, 13.33% média e 23.33% baixas.

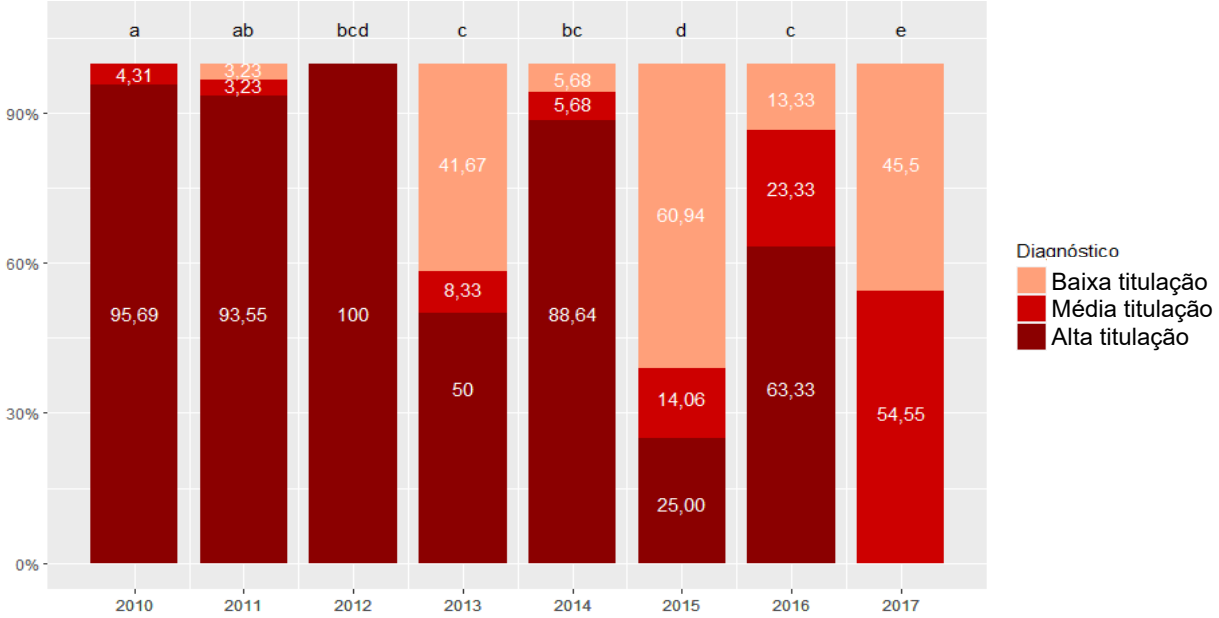
O ano de 2017 não possui reações consideradas altas em relação à sua titulação, apenas 54.55% média e 45,5% baixa.

Relações entre baixas, médias e altas titulações do ano de 2012, não puderam ser estabelecidas, pois neste ano houveram apenas 3 amostras viáveis que foram testadas e todas tiveram altas titulações.

GRÁFICO 4: Proporção de diagnósticos negativos e positivos entre os anos de 2010 a 2017.

FONTE: DADOS DA PESQUISA

GRÁFICO 5: Variação das titulações entre os anos de 2010 a 2017.



FONTE: DADOS DA PESQUISA

8 DISCUSSÃO

Durante o processo das análises sorológicas das amostras coletadas de forma aleatória durante o período de 2010 a 2017, foram encontrados resultados positivos para Influenza Equina em cavalos não vacinados pertencentes a uma população específica de equídeos na região metropolitana de Belo Horizonte. Essa população é composta por equídeos de tração, participantes do Projeto Carroceiros, realizado pela Escola de Veterinária da UFMG.

A prevalência de anticorpos para o EIV H3N8 em testes de HI na população estudada em Belo Horizonte foi estimada em 47,92% (357/745), com variações de titulação entre 40 e > 2560. Este é o primeiro estudo retrospectivo de soroprevalência de anticorpos inibidores da hemaglutinação para o vírus da Influenza Equina, subtipo H3N8, sublinhagem Flórida Clado 1, realizado em Belo Horizonte, Minas Gerais em uma população de equídeos de tração. Sabe-se que os principais alvos dos anticorpos neutralizantes são as glicoproteínas de superfície, sendo a hemaglutinina (HA) o principal alvo dos anticorpos protetores induzidos pela infecção e vacinação (DALY, 2021).

O teste de inibição da hemaglutinação (HI) baseia-se na titulação desses anticorpos produzidos pela infecção ou vacinação. Como a população estudada não foi vacinada para Influenza Equina, pode-se inferir que as respostas positivas e suas altas titulações indicam a circulação do vírus, fato evidenciado por serem amostras coletadas de forma aleatória

Resultados semelhantes foram encontrados em estudos de soroprevalência realizados no Brasil desde 1985. Pagano e colaboradores encontraram prevalências que variaram de 24,7% a 42,91% em pesquisas de anticorpos para o vírus H3N8 em equinos não vacinados em vários estados brasileiros (PAGANO ET AL., 1985). Em Rondônia, especificamente em Monte Negro, (AGUIAR ET AL., 2008) encontraram uma soroprevalência de 42% para o vírus H3N8 em um teste de HI com 176 equídeos.

Percentuais de soropositividade semelhantes foram encontrados por (DALY ET AL., 2021), que relataram 44,7% de sororreagentes para o H3N8 (A/equine/Richmond/1/07) em testes de hemólise radial simples em 850 cavalos coletados entre 2005 e 2017. No estudo de SILVA ET AL., 2014 na região do Pantanal, a soroprevalência foi de 45,2%, sugerindo uma circulação ativa do vírus. Os resultados semelhantes obtidos em outros estudos, indicam uma possível circulação ativa do vírus, conforme sugerido por (SILVA ET AL., 2014)

A importância desses resultados para a vigilância epidemiológica é destacada por estudos como o de (HANG ET AL., 2017), que apontam preocupações econômicas e riscos de zoonoses associadas à presença do vírus H3N8 em equídeos. Embora infecções humanas pelo

VIE sejam raras, o risco de zoonoses e infecções cruzadas entre espécies é significativo (KASEL & COUCH, 1969; BERRIOS, 2005; CRAWFORD ET AL., 2005). (KASEL & COUCH, 1969) relataram sintomas em humanos inoculados experimentalmente com o H3N8 equino, aumentando a preocupação com a interação entre equinos e humanos.

Um paralelo pode ser traçado considerando que Belo Horizonte, capital de Minas Gerais, é sede de eventos equestres importantes. Na capital e na região metropolitana, não é raro encontrar estabelecimentos destinados outras finalidades equestres, como hípicas e centros de treinamento, que estejam muito próximos a locais de aglomeração e estadia dos animais de tração A ausência de vacinação na população estudada, devido a questões financeiras e dificuldades de acesso a atendimento veterinário, contribui para as altas titulações observadas, além de fatores como a movimentação dessa população na região metropolitana de Belo Horizonte e a possível infecção subclínica, conforme discutido por THOMAS CHAMBERS, (2022), ressaltam a necessidade de monitoramento para evitar a propagação da doença e possíveis impactos na saúde animal e humana.

O PNSE utiliza da exigência da vacinação de equídeos para transporte para as mais diversas finalidades, como alternativa para tentativa de conter a disseminação da doença, ou para que em caso de surtos, os sintomas sejam menores. Porém o trânsito dos animais de tração na cidade de Belo Horizonte para realização da atividade a qual eles estão destinados, não exige vacinação, fator que expõe esses animais de forma mais intensa ao vírus.

Pelos resultados positivos durantes os anos estudados, é notório que o vírus circula nessa população, mas não se pode precisar exatamente quando começou a circulação ou se houveram surtos não diagnosticados nessa população. Infecções subclínicas e as preocupações em como elas influenciam na epidemiologia da doença já foi descrita por (THOMAS CHAMBERS, 2022) que afirma que em animais que tinham gerado alguma resposta imunológica para o vírus frente a infecções prévias, estes poderiam excretar o vírus sem manifestação clínica da doença, caracterizando assim os animais subclínicos, o que caracteriza mais um fator de risco para a disseminação e compreensão dos resultados positivos observados.

Outros fatores poderiam ser analisados para a compreensão dos resultados positivos, não somente no resultado geral durante todo o período analisado, mas também as suas flutuações das titulações de anticorpos de acordo com o passar dos anos. Em um estudo retrospectivo, (DALY ET AL., 2021), correlacionou a idade, raça e sexo com os fatores de risco para a Influenza Equina. Sua análise retrospectiva de soroprevalência para H3N8 percebeu uma soroprevalência maior em animais mais velhos, justificando os dados sugerindo que as altas titulações poderiam ser explicadas por exposições repetitivas aos vírus. (DALY ET AL., 2021)

também relacionou os anos de coleta das amostras como fator de risco para alta soroprevalência, ao correlacionar os anos das coletas com anos em que ocorreram surtos ou em ano que ocorreu surto em ocasião anterior.

Entretanto informações como as de idade, sexo e raça não puderam ser obtidas e suas possíveis correlações com manifestação de sintomas também não puderam ser obtidas, uma vez que o acesso ao histórico desses animais foi limitado apenas à que são animais que não foram imunizados para a Influenza Equina. No que tange aos anos das coletas e inferências que poderiam ser feitas a respeito da sazonalidade da doença, há também uma limitação, visto que essas amostras foram coletadas de maneira aleatória durante os anos.

Pode-se tentar correlacionar as altas titulações, como proposto por THOMAS CHAMBERS (2022), ao perceber que altas titulações e soroprevalência no ano de 2010 foram encontrados, situações que poderiam ser explicados por um ano que resulta de outros dois anos (2008 e 2009) em que surtos no Brasil foram notificados.

No ano de 2010 surtos não foram notificados em mesma proporção à WOAH, porém animais com infecções subclínicas explicariam o fato de titulações altas e alta prevalência para o ano de 2010. O número de casos reportados à WOAH em 2011, foi um pouco maior do que no ano de 2010, mas foi possível perceber ainda uma alta prevalência nos animais estudados, aliados a altas titulações, o que reforça mais ainda a sugestão de circulação desses vírus na população estudada.

Uma outra limitação do estudo é referente à baixa proporção de amostras do analisadas no ano de 2012, que foi um ano importante para o Brasil em relação ao número de casos reportados à WOAH, que ultrapassou o 1000 casos e foi um ano importante na caracterização do vírus causador do surto, feito por (VILLALOBOS ET AL., 2013), entretanto, o número baixo de amostras, apenas 3, em que todas foram positivas com altas titulações, é um número baixo para que se possa afirmar ou negar alguma sugestão em relação a uma maior ou menor circulação do vírus.

Em 2013, em que os resultados positivos (22%) ainda foram obtidos em um número menor de amostras quando comparado ao número de amostras testadas nos anos de 2010 e 2011, porém amostras com resultados forte e médio positivos, superam os 50%, o que pode ser justificada por uma maior circulação dos vírus no ano, com possíveis apresentações subclínicas ao correlacionar o número de casos reportados á WOAH no ano em questão. O ano de 2014, apresentou positividade de 82,7% nos testes, aliados à resultados em que mais de 88 % das amostras tiveram altas titulações, o que pode ser correlacionado ao número de casos reportados, em que se teve um aumento no ano de 2014.

O surto de 2015 que ocorreu em São Paulo, pode ter sido um fato isolado para região, sugerindo uma menor circulação do vírus em Belo Horizonte, o que justificaria os resultados menores em relação às titulações e soropositividade. Não se tem dados a respeito de surtos reportados à WOAH sobre os anos de 2016 e 2017, porém ao analisar esses anos, sugere-se que os vírus circulam na população, não somente pelos resultados positivos de soroprevalência, mas também pela frequência de alta-média titulação apresentadas nesses anos. A soroprevalência obtida se refere a uma pesquisa realizada em uma população que não recebeu vacinação para IE, através disso pode-se inferir que os diagnósticos positivos e suas altas titulações podem ser explicadas por uma circulação do vírus e que os VIE se manifestam de maneira endêmica corroborando o que foi dito por FAVARO E RICHTZENHAIN (2015), que sugeriram que os levantamentos sorológicos presentes na literatura realizados em populações de equinos assintomáticos em várias localidades no Brasil, sugeriam que a infecção com o vírus da Influenza Equina VIE se manifestando de maneira endêmica.

Os impactos econômicos e de saúde pública da IE não podem ser subestimados. A implementação de estratégias de vacinação e controle, junto a programas robustos de vigilância epidemiológica, são essenciais para mitigar os riscos e reduzir o impacto da doença.

Na China, por exemplo, a circulação do vírus H3N8 em jumentos representou uma preocupação econômica significativa (HANG ET AL., 2017). Além dos custos diretos associados ao tratamento e manejo dos animais infectados, a possibilidade de transmissão do vírus para humanos representa uma ameaça significativa à saúde pública. O aparecimento dos vírus H3N8 nos jumentos, se manifestava na ocasião uma preocupação econômica, sendo vista até como um fardo para o país. As populações de equinos e jumentos que coexistem com os humanos podem também se apresentar como um risco para a os humanos, mesmo sabendo que os relatos de infecção humana pelo VIE sejam raros, o risco de zoonoses e de infecções cruzadas entre espécies é um motivo de atenção. (KASEL & COUCH, 1969; BERRIOS, 2005; CRAWFORD ET AL., 2005).

No estudo 1969, no qual humanos voluntários foram experimentalmente inoculados com o H3N8 equino (A/equi/Miami/1953), resultou em sintomas como febre e acometimento do trato respiratório, tanto superior quanto inferior (KASEL & COUCH, 1969), aumentam ainda mais a preocupação com interação entre os equinos-humanos e as preocupações para saúde pública.

Outro paralelo pode ser traçado, analisando Belo Horizonte como a capital de Minas Gerais, sendo cidade importante para sediar eventos importantes no meio equestre. A proximidade entre estabelecimentos envolvidos com esportes e lazer e a presença de animais

de tração aumentam o risco de disseminação do vírus. A circulação de pessoas e animais deve ser considerada um fator de risco para a transmissão do VIE. Ao considerar que a circulação de pessoas, a chegada de equinos na cidade e o aumento da circulação, podem apresentar um risco para disseminação dos VIE para as populações da cidade de Belo Horizonte e região metropolitana, por saber que a literatura já afirma que a transmissão do vírus também pode ocorrer através de mecanismos mecânicos de transmissão através de materiais contaminados (fômites) como roupa, equipamentos, escovas que são utilizados por profissionais que trabalham com os equídeos. (WOAH,2022).

Tendo como referência o que foi vivenciado durante o surto na Nigéria de 2019, em equinos que apresentam função circulação entre as fronteiras do país, em locais que já haviam sido identificados surtos como no Sudão, foi afirmado que o risco de introdução e reintrodução dos vírus da Influenza Equina era alta, devido a suas características de importação de animais vivos e ou de produtos de origem animal. Tanto a população da China e da Nigéria, como as descritas pelos autores, por pertencerem em situações semelhantes às dos carroceiros, podem nos ajudar a esclarecer os riscos tanto para a saúde animal quanto para a saúde humana.

Trabalhos como estes contribuem substancialmente para o corpo de conhecimento sobre a epidemiologia da Influenza Equina na região metropolitana de Belo Horizonte, informações e pontos a serem levados em consideração para orientar futuras pesquisas, avaliar as medidas que são tomadas pelo Programa Nacional de Sanidade Equina, além de auxiliar no processo de vigilância epidemiológica para doença. No entanto, são necessários estudos adicionais para elucidar completamente a dinâmica de transmissão do vírus, não somente em Belo Horizonte, mas a nível nacional para que se possa desenvolver estratégias de controle mais eficazes e sustentáveis.

Este estudo representa um marco significativo como o primeiro trabalho realizado em equídeos de Minas Gerais. Essa distinção é crucial, pois oferece uma perspectiva que não havia sido vista anteriormente sobre a epidemiologia da doença nesse contexto específico, preenchendo uma lacuna importante na literatura científica. Ao investigar uma população de equídeos que desempenha um papel essencial na economia e cultura locais, este estudo não apenas fornece compreensões sobre a prevalência da Influenza Equina, mas também destaca a relevância dessa população para o entendimento da doença em nível regional e nacional.

Os equídeos de tração representam uma parcela significativa da população equina em muitas regiões do Brasil, e seu estudo pode auxiliar muito no entendimento da dinâmica de transmissão da doença, identificação de fatores de risco e desenvolvimento de estratégias de controle e prevenção.

9 CONCLUSÃO

Foi possível através do estudo realizado estimar pela primeira vez a soroprevalência retrospectiva para o vírus da Influenza Equina subtipo H3N8 FC1 em uma população de equídeos de tração do município de Belo Horizonte em Minas Gerais.

A prevalência obtida foi de 47,92% sugerindo que esse vírus circula na população estuda e corrobora o que é dito na literatura que afirma que o vírus da Influenza Equina se manifesta de forma endêmica pelo território brasileiro.

Dados de soroprevalência são importantes quando vistos como métricas que auxiliam na vigilância para o enfrentamento, controle e prevenção da Influenza Equina em Minas Gerais e no Brasil, mais estudos como esses são imprescindíveis sabendo da importância da equideocultura no Brasil.

REFERÊNCIAS

ABDEL-MONEIM, AHMED S.; ABDEL-GHANY, AHMAD E.; SHANY, SALAMA A.S. Isolation and characterization of highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N1 from donkeys. Journal of biomedical science, v. 17, n. 1, p. 1-6, 2010.

ADEYEFA C, JAMES M, MCCAULEY J. Antigenic and genetic analysis of equine influenza viruses from tropical Africa in 1991. Epidemiol Infect. 1996; 117:367–374.

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; LARA, M. C. C. S.H.; VILLALOBOS, E. M. C.; CUNHA, E. M. S.; OKUDA, L. H.; STÉFANO, E.; NASSAR, A. F. C.; SOUZA, G. O.; VASCONCELLOS, S. A.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Seroprevalence of viral and bacterial agents in equids from Monte Negro Municipality, State of Rondônia. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 45, n. 4, p. 269-276, 2008.doi: http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95962008000400003.

AICH, U., BECKLEY, N., SHRIVER, Z., RAMAN, R., VISWANATHAN, K., HOBBIE, S. AND SASISEKHARAN, R. (2011), Glycomics-based analysis of chicken red blood cells provides insight into the selectivity of the viral agglutination assay. The FEBS Journal, 278: 1699-1712. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08096.x

ALEXANDER, D. J.; BROWN, I. H. Recent zoonoses caused by influenza A viruses. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties, Paris, v. 19, n.1, p. 197–225, 2000.

AMY Y., 2019. Equine Influenza. UCDAVIS Acesso em: 10/03/2024 https://ceh.vetmed.ucdavis.edu/health-topics/equine-influenza-flu.

ARBEITSKREIS BLUT, UNTERGRUPPE "BEWERTUNG BLUTASSOZIIERTER KRANKHEITSERREGER". Influenza Virus. Transfus Med Hemother. 2009;36(1):32-39. Disponível em: https://doi.org/10.1159/000197314.

BERRIOS, E. P. Influenza Equina en Chile (1963-1992). Un posible caso em un ser humano. Revista Chilena de Infectologia, v. 22, n. 1, p. 47-50, 2005.

BIBBY D.C., SAVANOVIC M., ZHANG .J, TORELLI A., JEENINGA R.E., GAGNON L., HARRIS .SL. 2022. Interlaboratory Reproducibility of Standardized Hemagglutination Inhibition Assays. mSphere7: e00953-21. https://doi.org/10.1128/msphere.00953-21

BRETT, I.C., JOHANSSON, B.E. Immunization against influenza A virus: comparison of conventional inactivated, live-attenuated and recombinant baculovirus produced purified hemagglutinin and neuraminidase vaccines in a murine model system. Virology 339, 273–280, 2005.

CDC Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD) influenza (FLU) Antigenic characterization. Dez, 2022 Disponível em: https://www.cdc.gov/flu/about/professionals/antigenic.htm

CHAMBERS, T. M. (2014). “A brief introduction to equine influenza and equine influenza viruses,” in Animal Influenza Virus. Methods in Molecular Biology, ed E. Spackman (New York, NY: Springer), Chapter 31, 365–370.

COSTA, L. M. C.; MERCHAN-HAMANN, E. Pandemias de influenza e a estrutura sanitária brasileira: breve histórico e caracterização dos cenários. Revista Pan-Amazônica de Saúde, v. 7, n. 1, p. 11-25, 2016.

CRAWFORD, P. C. et al. Transmission of equine influenza virus to dogs. Science, v. 310, n.5747. p. 482-485, 2005.

CULLINANE, A.; ELTON, D.; MUMFORD, J. Equine influenza: surveillance and control. Influenza and Other Respiratory Viruses, v. 4, n. 6, p. 339-344, 2010.

CULLINANE A., NEWTON J.R.. Equine influenza—A global perspective, Veterinary Microbiology, Volume 167, Issues 1–2, 2013, Pages 205-214, ISSN 0378-1135, https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.03.029.

CUNHA, E. M. S.; VILLALOBOS, E. M. C.; NASSAR, A. F. C.; LARA, M. C. C. S. H.; PERES, N. F.; PALAZZO, J. P. C.; SILVA, A.; STEFANO, E.; PINTO, F. A. Prevalência de anticorpos contra agentes virais em equídeos no sul do Estado de São Paulo. Arquivos do Instituto Biológico, v.76, n. 2, p. 165-171, 2009.

DALY, J. M., MEGID, J., LANGONI, H., DE NARDI JÚNIOR, G., & RIBEIRO, M. G. (2021). Retrospective serological survey for influenza in horses from Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 52(1), 461-466. https://doi.org/10.1007/s42770-020-00398-8

DALY JM, MACRAE S, NEWTON JR, WATTRANG E, ELTON DM. Equine influenza: a review of an unpredictable virus. Vet J. 2011 Jul;189(1):7-14. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.06.026. Epub 2010 Aug 3. PMID: 20685140.

DIEL, D. G.; ALMEIDA, S. R.; WEIBLEN, R.; FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D.; KREUTZ, L. C.; GROFF, F. H. S.; FLORES, E. F. Prevalence of antibodies to influenza virus, viral arteritis and herpesvirus in horses of the Rio Grande do Sul state, Brazil. Ciência Rural, v. 36, n. 5, p.1467-1673, 2006. doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000500019.

GARRETT D., MONTESSO F., FOUGEROLLE S., LOPEZ-ALVAREZ M. R., BIRAND I., BOCK M., HUANG C. M., LEGRAND L., PRONOST S., PAILLOT R.. Refinement of the equine influenza model in the natural host: A meta-analysis to determine the benefits of individual nebulisation for experimental infection and vaccine evaluation in the face of decreased strain pathogenicity, Veterinary Microbiology, Volume 211, 2017, Pages 150-159, ISSN 0378-1135, https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.10.010.

ELTON D, BRYANT N. Facing the threat of equine influenza. Equine Vet J. 2011 May;43(3):250-8. doi: 10.1111/j.2042-3306.201Air GM, Laver WG. The neuraminidase of influenza virus. Proteins. 1989;6(4):341-56. doi: 10.1002/prot.340060402.

FAVARO, P. F.; RICHTZENHAIN, L. J. Equine influenza in Brazil. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 53, n. 2, p. 117-126, 2016.

FAVARO, P. F. ET al. Evolution of equine influenza viruses (H3N8) during a Brazilian outbreak, 2015. Brazilian Journal of Microbiology, v. 49, p. 336-346, 2018.

GABRIELE A. LANDOLT. Equine Influenza Virus, Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, Volume 30, Issue 3, 2014, Pages 507-522, ISSN 0749-0739, ISBN 9780323326865, https://doi.org/10.1016/j.cveq.2014.08.003.

GLASS, K., WOOD, J.L., MUMFORD, J.A., JESSET, D., GRENFELL, B.T., 2002. Modelling equine influenza 1: a stochastic model of within-yard epidemics. Epidemiol. Infect. 128, 491–502.

GONZALEZ-OBANDO, J.; FORERO, J.E.; ZULUAGA-CABRERA, A.M.; RUIZ-SAENZ, J. Equine Influenza Virus: An Old Known Enemy in the Americas. Vaccines 2022, 10, 1718. https://doi.org/10.3390/vaccines10101718.

GOTO H, SHIMIZU K, ABE T, KANAMITSU M. Sero-epidemiological study on equine influenza in Japan. J Clin Microbiol. 1976; 2:89–93.

GUO Y, WANG M, KAWAOKA Y, GORMAN O, ITO T, SAITO T, et al. Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. Virology. 1992; 188:245–55.

HEINEMANN, M. B.; CORTEZ, A.; LARA, M. C. C. S. H.; CUNHA, E. M. S.; NASSAR, A. F. C.; VILLALOBOS, E. M.C.; FERREIRA NETO, J. S.; HOMEM, V. S. F.; FERREIRA, F. Soroprevalência do vírus da Influenza Equina no Município de Uruará, PA, Brasil, Amazônia oriental. Arquivos do Instituto Biológico, v. 76, n. 4, p. 697-699,2009.

HIRST G. K. 1942. Adsorption of influenza hemagglutinins and virus by red blood cells. J Exp Med 76:195–209. https://doi.org/10.1084/jem.76.2.195.

HIRST, G. K. The agglutination of red cells by allantoic fluid of chick embryos infected with influenza virus. Science, v. 94, n. 2427, p. 22-23, 1941.

HIRST, G. K. The quantitative determination of influenza virus and antibodies by means of red cell agglutination. Journal of Experimental Medicine, v. 75, n. 1, p. 49-64, 1942

IBGE. FUNDAÇÃO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa do Rebanho de Equinos. Produção Agropecuária. Acesso em: 30 set. 2022 Disponível em: https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br.

ITO, M., NAGAI, M., HAYAKAWA, Y., KOMAE, H., MURAKAMI, N., YOTSUYA, S., ASAKURA, S., SAKODA, Y., KIDA, H. Genetic analyses of an H3N8 influenza virus isolate, causative strain of the outbreak of equine influenza at the Kanazawa racecourse in Japan in 2007. J. Vet. Med. Sci. 70, 899–906, 2008.

JANET M. DALY, SHONA MACRAE, J. RICHARD NEWTON, EVA WATTRANG, DEBRA M. ELTON. Equine influenza: A review of an unpredictable virus, The Veterinary Journal, Volume 189, Issue 1, 2011, Pages 7-14, ISSN 1090-0233, https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.06.026.

KARAMENDIN K, KYDYRMANOV A, KASYMBEKOV Y, KHAN E, DAULBAYEVA K, ASANOVA S, et al. Continuing evolution of equine influenza virus in central Asia, 2007–2012. Arch Virol. 2014; 159:2321–7.

KASEL, J. A.; COUCH, R. B. Experimental Infection in Man and Horses with Influenza A Viruses. Bulletin of the World Health Organization, v. 41, n. 3, p. 447-452, 1969.

KAWAOKA Y, WEBSTER RG. Origin of the hemagglutinin on A/Equine/Johannesburg/86 (H3N8): the first known equine influenza outbreak in South Africa. Arch Virol. 1989; 106:159–64.

KINSLEY R., SCOTT S. D., DALY J. M., Controlling equine influenza: Traditional to next generation serological assays, Veterinary Microbiology, Volume 187, 2016, Pages 15-20, ISSN 0378-1135, https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.03.006.

KRAMMER, F., SMITH, G.J.D., FOUCHIER, R.A.M. et al. Influenza. Nat Rev Dis Primers 4, 3 (2018). https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y.

LAI, A. C.K. ET AL. Alternate circulation of recent equine-2 influenza viruses (H3N8) from two distinct lineages in the United States. Virus Research, v. 100, n. 2, p. 159-164, 2004.

LAI, A., CHAMBERS, T., HOLLAND, JR., R. et al. Diverged evolution of recent equine-2 influenza (H3N8) viruses in the Western Hemisphere. Arch. Virol. 146, 1063–107

LIVESAY G.J., O'NEILL T., HANNANT D., YADAV M.P., MUMFORD J.A. The outbreak of equine influenza (H3N8) in the United Kingdom in 1989: diagnostic use of an antigen capture ELISA. Vet Rec. 1993; 133:515–9.

LOUREIRO, B. O.; OLIVEIRA JR, J. G. de; SCHIAVO, P. A.; OLIVEIRA, G. S. de; PORTZ, C.; BRITO, S. N.; BITTERCOURT, A. J.; ANDRADE, C. M. Soroepidemiologia do vírus da Influenza eqüina, subtipo A/Eqüino-2 (H3N8) no Estado do Rio de Janeiro. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 24, n. 1, p. 11-13,2002.

MAPA (BRASIL). Secretaria de Mobilidade Social, do Produtor Rural e do Cooperativismo Comissão Técnica Permanente de Bem-estar Animal - Câmara Setorial de Equideocultura. Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo. Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo, Brasília, ano 2016, p. 1-56, 2016. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/anos-anteriores/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo. Acesso em:

MILLER, W.M. C. Equine influenza. Further observations on the "coughing" outbreak, 1965. The Veterinary Record, v. 77, p. 455-456, 1965.

MURPHY, B.R., KASEL, J.A., CHANOCK, R.M. Association of serum antineuraminidase antibody with resistance to influenza in man. N. Engl. J. Med. 286, 1329–1332, 1972.

NSW DPI, 2007. Equine influenza outbreak: information for horse owners. Acesso em: 10/03/2024 at http://pandora.nla.gov.au/tep/76322. NSW Dept of Primary Industries [Orange, N.S.W].

NWS DPI 2008. Guidelines for veterinarians - Property visits vets.https://webarchive.nla.gov.au/awa/20081204050505/http://pandora.nla.gov.au/pan/76322/20081204-1411/www.dpi.nsw.gov.au/agriculture/livestock/horse/influenza/information/vets/guidelines/guidelines-property-visits-vets.html.

OIE. WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. In: OIE. Equine influenza. 2019. cap. 3.6.7 Terrestrial Manual. Acesso em: 25 set. 2022 Disponível em: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.06.07_EQ_INF.pdf.

OKAZAKI, K., KAWAOKA, Y., WEBSTER, RG. Evolutionary pathways of the PA genes of influenza A viruses.

OLIVEIRA, G. S.; SCHIAVO, P. A.; MAZUR, C.; ANDRADE, C. M. Anti body prevalence of Equine Influenza vírus, subtype H3N8, in equidsapreehendon Rio de Janeiro State, Brazil. Revista Ciência Rural, v. 35, n. 5, p. 1213-12152005. C.; ANDRADE://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000500038.

OLIVEIRA JR, J. G. (2018). Tese (Doutorado em Ciência Animal). Contribuição à vigilância da Influenza Equina no Pantanal Sul-Mato-Grossense. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.

OLUSA, T. A. O. et al. Serologic evidence of equine H7 influenza virus in polo horses in Nigeria. Science world journal, v. 5, n. 2, 2010.

PAGANO, M. C.; PASSOS, W. S.; CUNHA R. G. Anticorpos inibidores de hemoaglutinação para os vírus de influenza eqüina em soros de eqüídeos de várias regiões do Brasil. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 7, n. 7, p.194-198, 1985.

PALESE, P. *Orthomyxoviridae*: the viruses and their replication. Fields virology, p. 1647-1689, 2007.

PERGLIONE O. C., GOLEMBA, M. D., TORRES, C., & BARRANDEGUY, M. (2016). Molecular Epidemiology and Spatio-Temporal Dynamics of the H3N8 Equine Influenza Virus in South America. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *5*(4), 61. https://doi.org/10.3390/pathogens5040061

PERGLIONE O. C., GILDEA S, RIMONDI A, MIÑO S, VISSANI A, CAROSSINO M, et al. Epidemiological and virological findings during multiple outbreaks of equine influenza in South America in 2012. Influenza Other Respi Viruses. 2016; 10:37–46.

PARK A.W., DALY J.M., LEWIS N.S., SMITH D.J., WOOD J.L, GRENFELL BT. Quantifying the impact of immune escape on transmission dynamics of influenza. *Science (New York, NY)* 2009;326(5953):726–728. doi: 10.1126/science.1175980.

POWELL D.G, WATKINS K.L, LI P.H, SHORTRIDGE K.F. Outbreak of equine influenza among horses in Hong Kong during 1992. Vet Rec. 1995; 136:531–6.

SACK, A., CULLINANE, A., DARAMRAGCHAA, U., CHULUUNBAATAR, M., GONCHIGOO, B., & GRAY, G. C. (2019). Equine Influenza Virus—A Neglected, Reemergent Disease Threat. Emerging Infectious Diseases, 25(6), 1185-1191. https://doi.org/10.3201/eid2506.161846.

SCHOLTENS R.G, STEELE J.H, DOWDLE W.R, YARBROUGH W.B, ROBINSON R.Q. U.S. Epizootic of equine influenza, 1963. Public Health Rep. 1964; 79:393–402.

SHITTU I., MESEKO C. A., SULAIMAN L. P., INUWA B., MUSTAPHA M., ZAKARIYA P. S., MUHAMMAD A. A., MUHAMMAD U., ATUMAN Y. J., BARDE I. J., ZECCHIN

B., QUARANTA E. G., SHAMAKI D., ALABI O., MONNE I., FUSARO A., JOANNIS T. M., Fatal multiple outbreaks of equine influenza H3N8 in Nigeria, 2019: The first introduction of Florida clade 1 to West Africa,VeterinaryMicrobiology,Volume 248,2020,108820,ISSN 0378-1135, https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108820.

SILVA, L. G.; BORGES, A. M. C. M.; VILLALOBOS, E. M.C.; LARA, M. C. C. S. H.; CUNHA, E. M. S.; OLIVEIRA, A.C. S.; BRAGA, I. A.; AGUIAR, D. M. Prevalence of anti bodies against influenza virus in non-vaccinated equines from the Brazilian Pantanal. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 56, n. 6, p. 487-492,2014. doi: https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000600006

SILVA, R. A. M. S.; DAVILA, A. M. R.; IVERSSON, L. B.; ABREU, U. P. G. Equine viral diseases in the Pantanal, Brazil. Studies carried out from 1990 to 1995. Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinarire des Pays Tropicaux, v. 52, n. 1, p. 9-12, 1999.

SIMON M. FIRESTONE, KATHRIN A. SCHEMANN, JENNY-ANN L.M.L. TORIBIO, MICHAEL P. WARD, NAVNEET K. DHAND. A case-control study of risk factors for equine influenza spread onto horse premises during the 2007 epidemic in Australia, Preventive Veterinary Medicine, Volume 100, Issue 1, 2011, Pages 53-63, ISSN 0167-5877, https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.03.002.

SMYTH, G.; DAGLEY, K.; TAINSH, J. Insights into the economic consequences of the 2007 equine influenza outbreak in Australia. Australian Veterinary Journal, v. 89, n.1, p. 151-158, 2011.

SOVINOVÁ, O. et al. Isolation of a virus causing respiratory disease in horses. Acta Virol. 2, 51–61, 1958.

SREENIVASAN C.C, JANDHYALA S.S, LUO S, HAUSE B.M, THOMAS M, KNUDSEN D.E.B, et al. Phylogenetic analysis and characterization of a sporadic isolate of equine influenza A H3N8 from an unvaccinated horse in 2015. Viruses. 2018; 10:31.

SUBBARAO, K.; MURPHY, B. R.; FAUCI, A. S. Development of effective vaccines against pandemic influenza. Immunity, v. 24, n. 1, p. 5-9, 2006.

TU, J. et al. Isolation and molecular characterization of equine H3N8 influenza virus from pigs in China. Archives of Virology, v. 154, n.5, p. 887-890, 2009.

UPPAL P.K, YADAV MP, OBEROI MS. Isolation of A/Equi-2 virus during 1987 equine influenza epidemic in India. Equine Vet J. 1989; 21:364–6.

VAN RIEL, D. ET AL. H5N1 virus attachment to lower respiratory tract. Science 312, 399, 2006.

WADDEL, G. H., TEIGLAND, M. B., SIGEL, M. M. A new influenza virus associated with equine respiratory disease. J. Am. Vet. Med. Assoc. 143, 587–590, 1963.

WATSON J, DANIELS P, KIRKLAND P, CARROLL A, JEGGO M. The 2007 outbreak of equine influenza in Australia: lessons learned for international trade in horses. Rev Sci Tech. 2011; 30:87–93.

WEBSTER R.G. & BEAN JR W.J. Evolution and ecology of influenza viruses: Interespecies transmission. In: NICHOLSON, K. G., WEBSTER, R. G. & HAY, A. J. Textbook of Influenza. Blackwell Science, London, 1998.

WHITLOCK, F.; MURCIA, P.R.; NEWTON, J.R. A Review on Equine Influenza from a Human InfluenzaPerspective. Viruses 2022, 14, 1312.https://doi.org/10.3390/v14061312

WOAH. Painel surveillence. Disponível em: https://www.woah.org/en/document/expert-surveillance-panel-on-equine-influenza-vaccine-composition/. Acesso em: 10/03/2024

YAMADA, S. ET AL. Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors. Nature 444, 378–382, 2006.

YANG H., XIAO Y., MENG F., SUN F., CHEN M., CHENG Z., CHEN Y., LIU S., CHEN H., Emergence of H3N8 equine influenza virus in donkeys in China in 2017, Veterinary Microbiology, Volume 214,2018, Pages 1-6, ISSN 0378-1135, https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.11.033.