

Zoetis

Boletim Técnico

Bovinos de Leite

Bovinos de Corte

Equinos

Ovinos

Reprodução

Sanidade

Manejo

Genética

Nutrição

Zoetis
São Paulo, SP
Brasil

Número 01
Ano 2013

Influenza Equina

Pontos-chave

- A Influenza Equina é uma das doenças mais importantes do trato respiratório dos equinos, possui distribuição mundial e é endêmica no Brasil.
- Estudos revelam ligação direta entre os surtos da doença e a movimentação de equinos ao redor do mundo
- A vacinação adequada dos animais associada a medidas de manejo, como a quarentena, são ferramentas essenciais para o controle da doença
- A cepa Kentucky 97 induz altos títulos frente às principais cepas de Influenza isoladas recentemente na Europa e América do Norte.

Introdução

A Influenza equina é uma das mais importantes doenças do trato respiratório dos equinos, sendo endêmica no Brasil. Concentrações de equinos jovens em jockeys, hípcas e eventos aumentam o risco da infecção, especialmente quando os títulos de anticorpos soroneutralizantes encontram-se baixos.

O diagnóstico diferencial deve ser feito com relação à Arterite Viral Equina, Rinopneumonite (Herpesvírus equino tipo 1 e tipo 4) e ao garrotilho (*Streptococcus equi*). O rápido e constante trânsito de animais facilita a disseminação do vírus em uma população. A doença é introduzida esporadicamente por cavalos infectados com ou sem sintomas clínicos. Após a infecção, o vírus é rapidamente eliminado pelo sistema imunológico do animal. A doença é facilmente prevenida através da adoção de medidas sanitárias (como a quarentena de animais recém chegados por um período de no mínimo 14 dias) e vacinação apropriada dos animais.

Revisão de Literatura

Etiologia

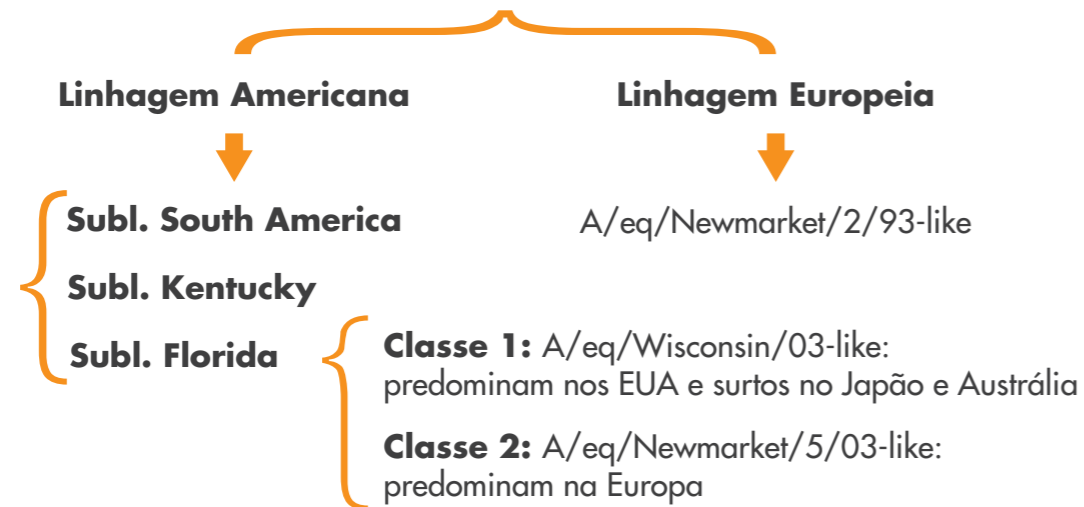
A Influenza equina é causada por um RNAvírus pertencente à família *Orthomyxoviridae*, gênero Influenza tipo A.

Dois subtipos virais são descritos como infectantes em equinos, sendo nomeadas de acordo com as suas glicoproteínas de envelope - neuraminidase (NA) e hemaglutinina (HA) em: A/equi/2 (H3N8) e A/equi/1 (H7N7). Desde 1956 o vírus A/equi/1 (H7N7) não é isolado de animais com sintomatologia clínica. Já o vírus A/equi/2 (H3N8) continua a circular mundialmente, sendo o mais importante em equinos.

No caso do subtipo viral A/equi/2 (H3N8) duas linhagens são descritas: Linhagem Americana e Linhagem Européia, sendo a classificação realizada inicialmente com base na sua localização geográfica.

Em 2001, a Linhagem Americana foi subdividida em 3 diferentes linhagens: a South America, Kentucky e Florida.

A Equi 2 (H3N8) - 1986



Em seguida, a evolução dos vírus da linhagem Flórida, resultou na emergência de duas sublinhagens: Flórida classe 1 e a Flórida classe 2.

Epidemiologia e Transmissão

A Influenza equina é uma enfermidade infecciosa do sistema respiratório de grande importância econômica nos equinos, sendo sua distribuição mundial. Concentrações de animais jovens aumentam o risco de infecção, bem como baixas concentrações de anticorpos no momento de elevado desafio.

Experimentalmente, animais de todas as idades e raças podem ser infectados com o vírus. Porém, a maior incidência da doença é observada em animais de 2 a 3 anos de idade.¹⁰ Cavalos mais velhos são geralmente menos susceptíveis à infecção, mas podem se tornar doentes quando expostos a cavalos excretando grande quantidade de vírus.

A influenza equina possui um curto período de incubação. Após infecção experimental, os cavalos podem eliminar o vírus por um período de 6 a 7 dias.

Embora a doença seja endêmica em muitos países, surtos ocorrem em intervalos de vários anos, quando a imunidade da população diminui ou quando há variação antigênica viral. Em contraste ao herpesvirus, o vírus da influenza não se mantém em portadores latentes assintomáticos, mesmo em grandes populações. Porém, a presença de animais com doença subclínica

e com eliminação viral é comum, particularmente após a infecção em animais parcialmente imunizados. A imunidade parcial ocorre em animais que não foram recentemente vacinados, ou quando há divergência entre a cepa vacinal utilizada e as cepas circulantes a campo. Estes animais são importantes para a disseminação da doença entre grupos de cavalos podendo explicar surtos da doença em animais que não foram expostos diretamente a animais com sintomatologia clínica da doença.

A doença é introduzida através de animais sintomáticos ou assintomáticos infectados. Esta epidemiologia associada à rápida eliminação do vírus pelo sistema imune do hospedeiro, sugere que a infecção pode ser evitada através da introdução de medidas preventivas como quarentena de cavalos recém-chegados, por um período de 14 dias, e a vacinação apropriada.

O vírus da influenza é altamente contagioso e se dissemina rapidamente em uma população de cavalos através de aerossóis contaminados com partículas virais, pela tosse. Equipamentos, mãos e veículos podem servir como fômites, pois o vírus pode sobreviver por horas nesses meios. A severidade dos sinais clínicos que incluem febre alta, descarga nasal, letargia, anorexia, tosse e mialgia, dependem do grau de imunidade do animal no momento do desafio.

O vírus têm sido responsável por diversos surtos em populações de cavalos ao redor do mundo e o grande

fator de disseminação do vírus é o trânsito internacional de equinos, especialmente de animais subclínicamente afetados. Estudos epidemiológicos e filogenéticos de surtos de Influenza têm encontrado ligações diretas com a movimentação de equinos, como o que ocorreu em Hong Kong em 1992, e em Newmarket em 2003.

A Influenza equina foi responsável por muitos surtos de doença respiratória em 2007, como o ocorrido no Japão e Austrália. Na Austrália, o surto ocorreu principalmente na população de animais não vacinados, após o escape do vírus das estações quarentenárias para a população de cavalos em geral. A restrição da movimentação de equinos associado à vacinação, erradicou o vírus da influenza no país.

Diferenças na patogenicidade são observadas entre as linhagens virais Americanas e Europeias em infecções experimentais em pôneis.³ Sugere-se que isolados pertencentes à linhagem americana podem conferir alguma proteção contra isolados da linhagem europeia.

Sinais Clínicos

Os sinais clínicos da doença podem ser visualizados entre 24-48 horas após a exposição ao vírus. A pirexia é o achado clínico mais frequente, sendo o primeiro pico visualizado entre 48 a 96 horas pós-infecção, com temperaturas podendo chegar a 41,1°C. O segundo pico febril pode ocorrer 7 dias após a infecção. A descarga nasal, inicialmente serosa, pode se tornar mucopurulenta entre 72 a 96 horas após a infecção.¹⁰ Tosse, linfadenomegalia e taquipnéia também podem ser visualizados. Muitos dos animais afetados tornam-se anoréxicos e perdem peso. Os sinais clínicos tipicamente se resolvem entre 7 a 14 dias em casos não complicados, embora a tosse possa persistir por 21 dias. Casos severos ocorrem no caso de infecções bacterianas secundárias e são comumente visualizados 14 dias pós-infecção.¹⁰

A morbidade da influenza é alta, podendo chegar a 100% em locais com elevada população de animais susceptíveis. A mortalidade é baixa e geralmente ocorre em potros, cavalos idosos, debilitados e burros e, em casos complicados com infecção bacteriana secundária, induzindo pleurite, pneumonia ou púrpura hemorrágica.

Imunidade e Vacinação

A infecção natural induz anticorpos de mucosa IgA e circulante IgG_a e IgG_b, enquanto que a administração parenteral de vacina inativada, induz anticorpos circulantes IgG.¹⁰ Em mamíferos, IgA nasal é muito importante para neutralização intracelular do vírus, prevenção da disseminação viral após infecção e para proteção cruzada contra vírus antigenicamente distintos de influenza. No caso dos anticorpos circulantes, IgG, há correlação positiva entre os níveis de anticorpos na



circulação e a proteção contra a infecção.

A infecção natural pelo vírus da influenza confere longa imunidade para a re-infecção. Experimentalmente, pôneis infectados naturalmente são protegidos contra os sinais clínicos e disseminação viral quando desafiados.

Completa imunidade clínica e viral contra cepa homóloga mostrou ser persistente por até 32 semanas após a primeira infecção e proteção parcial foi ainda alcançada após 1 ano. A resposta imune, tanto humoral quanto celular, foi demonstrada como protetora contra a infecção viral, sendo iniciada no tecido linfóide associado ao trato respiratório superior.

A vacinação dos animais contra a Influenza é um dos métodos mais importantes e que devem ser implementados a fim de se garantir um controle eficaz desta enfermidade. A vacinação dos animais induz tanto a imunidade protetora específica individual quanto a imunidade de rebanho.

No Brasil, somente vacinas inativadas são disponíveis para comercialização. A magnitude da resposta sorológica de animais vacinados com vacinas inativadas é de curta duração, o que exige a realização de reforços vacinais freqüentes (3-4 meses) em locais de elevado desafio para a doença. A resposta sorológica também é dependente de série de fatores, incluindo: a cepa vacinal; adjuvante vacinal (muitos estudos indicam uma pobre resposta imunológica em vacinas que utilizam hidróxido de alumínio como adjuvante); massa antigênica; histórico prévio de vacinação e/ou exposição ao vírus; idade; títulos de anticorpos no momento da vacinação e presença de anticorpos maternos.

A imunidade derivada das vacinas inativas é dependente dos níveis de anticorpos para hemaglutininas (HA) na circulação, e na ausência destes anticorpos, animais vacinados podem ser susceptíveis à infecção. Ao contrário, animais desafiados naturalmente induzem imunidade de longa duração independente da circulação de anticorpos contra hemaglutininas. Por isso, um fator extremamente importante para o sucesso no controle da influenza equina é o protocolo vacinal inicial (2 doses com intervalo de 21-30 dias), essencial para o desenvolvimento adequado de anticorpos protetores ao longo da vida do animal.

A prevenção dos sinais clínicos através da vacinação é diretamente dependente dos níveis de anticorpos presentes na circulação dos animais e também da cepa viral presente na vacina, que deve possuir comprovada eficácia frente às cepas virais recentemente isoladas. Devido às características genotípicas virais e a rápida evolução do vírus da Influenza com emergência de novas variantes e desenvolvimento de epidemias, a contínua vigilância no campo, a fim de se identificar novas ameaças, é importante.

A Organização Internacional de Epizootias (OIE) recomenda a vacinação dos equinos com cepas atualizadas e que possuam testes de eficácia a campo comprovados.⁶

A vacinação não impede a infecção nem a eliminação viral. É importante ressaltar que animais vacinados podem eliminar o vírus, porém com uma taxa menor quando comparados a animais não vacinados. Animais vacinados também poderão apresentar os sinais clínicos da doença quando em situações de desafio elevado, porém os sinais clínicos serão mais brandos quando comparados a animais não vacinados.

Há uma correlação positiva entre os títulos de anticorpos após vacinação e a porcentagem de proteção. Análises de títulos de anticorpos após a vacinação com vacina inativada ou exposição natural ao patógeno mostram que altos títulos de anticorpos são associados a baixas taxas de infecção, menor período de eliminação viral e redução na severidade da doença clínica quando de uma exposição do animal ao vírus.⁵

A vacinação dos animais reduz a incidência de surtos de doença, quando o esquema vacinal é realizado de maneira adequada na população, mantendo o nível de anticorpos protetores circulantes.

A vacinação não é indicada em animais que estejam incubando o vírus ou que estejam clinicamente doentes. Sendo assim, a vacinação correta dos animais, associada a medidas higiênico-sanitárias adequadas, são as ferramentas mais importantes no controle da Influenza Equina.

Diagnóstico

O diagnóstico pode iniciar com a suspeita clínica através do aparecimento de uma doença respiratória aguda de rápida disseminação, febre e tosse seca. Os métodos utilizados para a confirmação do diagnóstico da influenza incluem o isolamento viral em cultura celular ou ovos embrionados, RT-PCR e métodos sorológicos como a inibição da hemaglutinação. O isolamento do vírus é feito a partir de secreções nasais coletadas com o auxílio de swab formado por uma haste (30 cm de comprimento para animais adultos, 25 cm para pôneis e 20 cm para potros) com gaze na extremidade e que deve ser introduzido profundamente na cavidade nasal. Após a coleta, o swab deve ser introduzido em uma solução tampão, preferencialmente meio essencial mínimo (MEM) ou outro meio tampão, e transportado sob refrigeração ao laboratório. Outra forma de diagnóstico, é a utilização de soro pareado, com uma amostra coletada na fase aguda e a outra na fase convalescente. As amostras devem ser enviadas juntas para o laboratório, onde a confirmação da doença é feita após a visualização de soroconversão de, no mínimo, 4 vezes. É sempre aconselhável a coleta de amostras pareadas de soro de, no mínimo, 10% do rebanho.

Deve ser realizado o diagnóstico diferencial para *Streptococcus equi* (garrotilho), herpesvírus equino-1 e herpesvírus equino-4, e arterite viral equina.

Protocolo de Vacinação

- Primo-vacinação: 2 doses com intervalo de 21 a 30 dias.¹¹
- Rotina de vacinação: Em locais de elevado desafio, deve-se realizar a vacinação a cada 3-4 meses. Nos demais locais realizar reforço anual.
- Éguas prenhes: 4-8 semanas antes da data prevista do parto.¹¹
- Potros: Potros nascidos soronegativos ou de fêmeas não vacinadas podem ser vacinados aos 3 meses de idade. Já potros nascidos de éguas bem imunizadas a vacinação pode ser iniciada aos 4-6 meses de idade, a fim de se evitar a interferência de anticorpos maternos.¹¹

Atualização sobre Influenza Equina

No estudo realizado por Bryant et al. (2009), um total de 27 cepas do vírus da Influenza provenientes da América do Norte e Europa, isolados entre os anos de 2006 e 2007, foram caracterizados em detalhe a fim de se prover dados para atualização e seleção de cepas vacinais. Foram isolados vírus pertencentes às linhagens Americana e Européia. Neste estudo, no Reino Unido, 20 cepas virais foram isoladas a partir de 28 swabs

nasofaringeanos. Destas cepas isoladas, 18 pertenciam à Linhagem Americana sublinhagem Florida (classe 2), enquanto que duas cepas pertenciam à Linhagem Americana sublinhagem Florida (classe 1). Na Suíça, foi isolado um vírus pertencente à Linhagem Européia, sendo denominado A/equi/Switzerland/P112/07.

Na América do Norte, seis vírus foram isolados sendo todos pertencentes à Linhagem Americana, sublinhagem Florida classe 1.

Das 27 cepas de Influenza isoladas e analisadas por Bryant et al. (2009) entre os anos de 2006-2007, na Europa e América do Norte, 63% (17 cepas) pertenciam à Sublinhagem Florida classe 2 e, 29,6% (8 cepas) pertenciam à Sublinhagem Florida classe 1. A distribuição em porcentagem das cepas isoladas por Bryant et al. (2009) pode ser verificada no Gráfico 1.

A Tabela 1. caracteriza e avalia os isolados de cepa de Influenza através do teste de inibição de hemaglutinação, utilizando ferrets vacinados com as cepas de referência e comparando os seus títulos frente às cepas de campo, isoladas nos últimos surtos entre os anos de 2006 e 2007.

Podemos observar que a cepa vacinal Kentucky 97 apresentou altos títulos frente às cepas pertencentes à

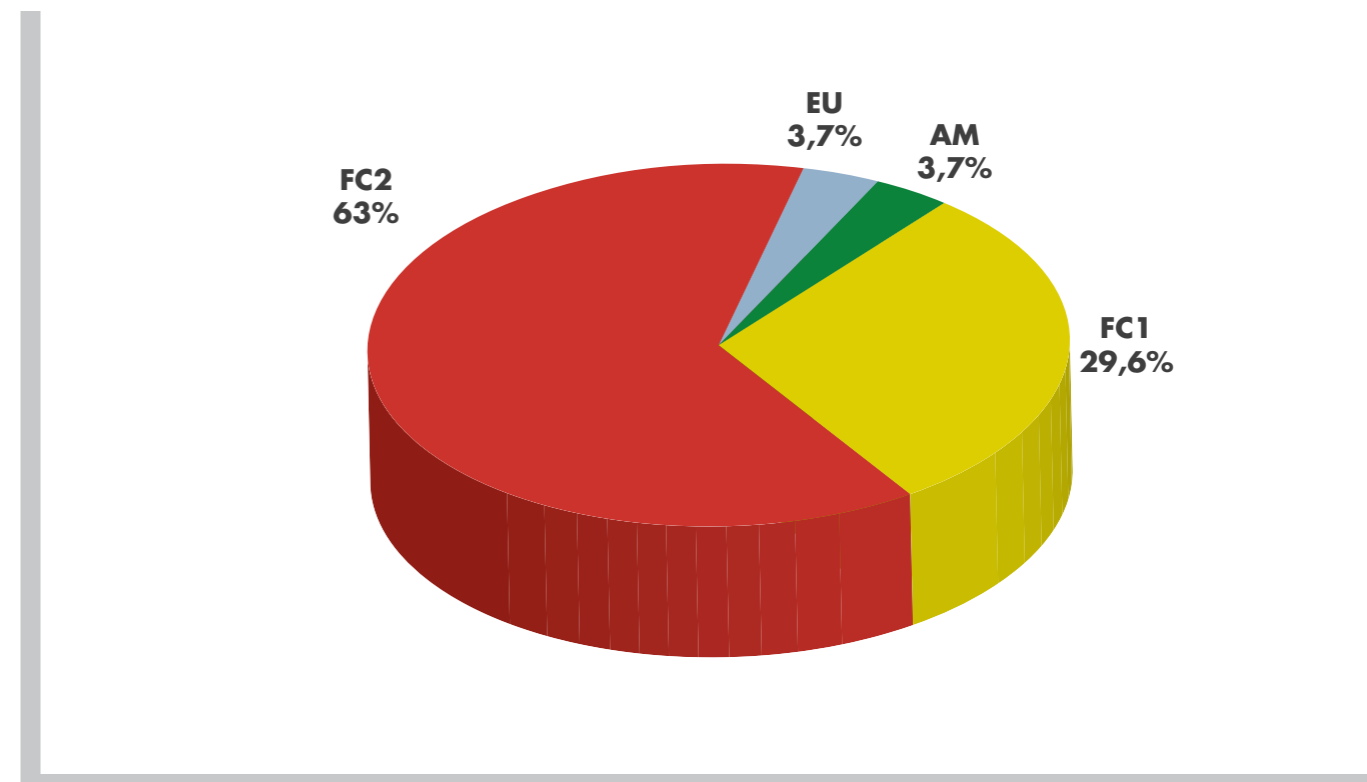


Gráfico 1: Porcentagem de cepas isoladas e classificadas segundo sua linhagem. Fonte: Bryant et al. (2009).

Tabela 1 - Caracterização dos isolados do vírus da Influenza através do teste de inibição de hemaglutinação

	Reference ferret antisera							
	N/1/93 (Am)	N/2/93 (Eu)	Ken/97 (PC1)	Ken/98 (Am)	Lin/02 (Eu)	Ben/03 (Eu)	N/5/03 (FC2)	SA/4/03 (FC1)
Reference viruses								
A/eq/Newmarket/1/93	128	8	256	128	10	13	81	20
A/eq/Newmarket/2/93	40	81	102	32	81	81	20	8
A/eq/Kentucky/97	64	<8	256	64	8	8	203	51
A/eq/Kentucky/98	256	8	406	256	20	20	128	32
A/eq/Lincolnshire/1/02	<8	23	54	8	128	256	16	8
A/eq/Benelux/03	8	64	64	16	203	256	20	8
A/eq/Newmarket/5/03	91	8	326	91	8	11	362	91
A/eq/South-Africa/4/03	16	<8	102	256	8	8	81	406
American								
A/eq/Cheshire/1/06	32	<8	32	23	<8	8	32	16
Florida clade 1								
A/eq/Lincolnshire/1/07	16	<8	64	<8	<8	8	64	256
A/eq/Florida/2/06	8	<8	32	16	<8	8	45	256
A/eq/California/1/07	<8	<8	32	16	<8	<8	32	128
A/eq/California/2/07	<8	<8	32	8	<8	<8	16	32
A/eq/Kentucky/4/07	11	<8	91	32	8	8	91	512
A/eq/Kentucky/7/07	64	<8	128	64	12	16	128	1024
A/eq/Pennsylvania/1/07	<8	13	32	11	23	54	23	32
Florida clade 2								
A/eq/Southampton/1/06	64	<8	128	64	8	11	256	91
A/eq/Lincolnshire/1/06	91	<8	362	128	8	11	64	32
A/eq/Lanark/1/06	64	8	362	102	10	13	203	81
A/eq/Cheshire/1/07	128	<8	362	128	16	23	724	128
A/eq/Cheshire/2/07	45	<8	181	64	<8	8	128	45
A/eq/Cheshire/3/07	32	<8	128	32	<8	8	128	45
A/eq/Horsham/1/07	64	<8	256	45	<8	<8	91	45
A/eq/Maidstone/1/07	91	<8	256	128	<8	<8	256	128
A/eq/Maidstone/2/07	256	<8	512	128	16	16	256	128
A/eq/Strathaven/1/07	128	<8	512	256	8	16	512	128
A/eq/Richmond/1/07	64	<8	256	128	<8	8	256	64
A/eq/Richmond/2/07	64	<8	256	128	<8	8	256	64
A/eq/Solihull/1/07	64	<8	256	64	<8	<8	128	64
A/eq/Solihull/2/07	64	<8	128	64	<8	8	128	45
A/eq/Southampton/1/07	91	<8	256	64	<8	8	128	45
A/eq/Southampton/2/07	128	<8	256	128	8	8	181	64
A/eq/Newmarket/1/07	64	<8	181	64	<8	8	128	32
Eurasian								
A/eq/Switzerland/1/07	<8	<8	16	<8	8	16	<8	<8

Fonte: Bryant et al. (2009).

sublinhagem Florida Classe 2, às cepas anteriores a 2006 e 2007 e à cepa Newmarket/2/93, quando comparada à cepa South Africa 2003.

Em 76% dos casos, os títulos da cepa Kentucky/97 foram superiores aos da South Africa/03. Em 18% dos casos, os títulos da cepa South África/03 foram superiores aos da cepa Kentucky/97 e, em 6% dos casos as duas cepas obtiveram titulações semelhantes.

Também podemos observar que, frente à sublinhagem Florida Classe 1, a cepa Kentucky/ 97 apresenta, em 28% dos casos, a mesma titulação quando comparado à cepa South Africa/03.

No Brasil, não foram realizados estudos de caracterização antigênica e genética dos vírus de Influenza isolados no país. Contudo, estudos de soroprevalência da doença foram desenvolvidos e demonstraram a presença e circulação do vírus na população equina nacional.

O vírus da influenza equina, subtipo H3N8, encontra-se disseminado em várias regiões do Brasil. Dados da Organização Mundial de Saúde Animal mostram que desde 2005 a doença foi confirmada nos estados de Sergipe, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo e Distrito Federal. No ano de 2008, ocorreram 45 surtos de influenza equina em 6 diferentes

estados das regiões Sul, Sudeste e Nordeste (Fonte: http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_detail).

No Rio de Janeiro, estimou-se 35,9% de equídeos sorologicamente positivos para a Influenza Equina.⁷ No Rio Grande do Sul, um estudo revelou 65,4% de animais soropositivos para a doença.⁴ No Pará, estudo identificou 35,79% de animais soropositivos.⁹

Devido ao intenso trânsito internacional de equinos, no qual o Brasil possui participação, podemos inferir que os cavalos do Brasil encontram-se predispostos à infecção por cepas pertencentes às Linhagens Americanas (sublinhagem Kentucky, South America, Florida classe 1 e Flórida classe 2) e linhagens européias.

A cepa Kentucky 97 gera os maiores títulos frente às principais cepas de Influenza isoladas recentemente.

Concluindo, uma variedade de vírus da influenza antigenicamente distintos, continua a circular no mundo. Os vírus da sublinhagem Florida classe 1 e classe 2 continuam a circular na Europa e na América do Norte.

Embora a Influenza Equina seja uma enfermidade de notificação obrigatória e de grande importância econômica, acredita-se que ainda seja sub-diagnosticada no Brasil.

Bibliografia:

- BARQUERO, N.; DALY, M.J.; NEWTON, J.R. Risk factors for influenza infection in vaccinated racehorses: Lessons from an outbreak in Newmarket, UK in 2003. *Vaccine*, v.25, p.7520-7529, 2007.
- BRYANT, N.A.; RASH, A.S.; RUSSELL, C.A.; ROSS, J.; COOKE, A.; BOWMAN, S.; MACRAE, S.; LEWIS, N.S.; PAILLOT, R.; ZANONI, R.; MEIER, H.; GRIFFITHS, L.A.; DALY, J.M.; TIWARI, A.; CHAMBERS, T.M.; NEWTON, J.R.; ELTON, D.M. Antigenic and genetic variations in European and North American equine influenza virus strains (H3N8) isolated from 2006 and 2007. *Veterinary Microbiology*, v. 138, p. 41-52, 2009.
- DALY, M.J.; YATES, J.P.; NEWTON, R.J.; PARK, A.; HENLEY, W.; WOOD, N.L. J.; DAVIS-POYNTER, N.; MUMFORD, A. J. Evidence supporting the inclusion of strains from each of the two co-circulating lineages of H3N8 equine influenza virus in vaccines. *Vaccine*, vol. 22, pág 4101-4109, 2004.
- DIEL, D.G.; ALMEIDA, S.R.; WEIBLEN, R.; FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D.; KREUTZ, L.C.; GROFF, F.H.S.; FLORES, E.F. Prevalência de anticorpos contra o vírus da Influenza, da arterite viral e herpesvírus em equinos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v.36, n.5, 2006.
- NEWTON, J.R.; LAKHANI, K.H.; WOOD, J.L.N.; BAKER, D.J.; Risk factors for equine influenza serum antibody titres in young Thoroughbred racehorses given an inactivated vaccine. *Preventive Veterinary Medicine*. V.46, pag. 129-141, 2000.
- OIE. *Terrestrial Manual. Equine influenza*. cap 2. 5. 7. pág 871-883, 2008.
- OLIVEIRA, G.S.; SCHIAVO, P.A.; MAZUR, C.; ANDRADE, C.M. Prevalência de anticorpos para o vírus da Influenza Equina, subtipo H3N8, em equídeos apreendidos no Estado do Rio de Janeiro. *Ciência Rural*, v.35, n.5, 2005.
- PARK, A.W.; WOOD, J.L.N.; NEWTON, J.R.; MUMFORD, J.A.; GREENFELL, B.T. Optimising vaccination strategies in equine influenza. *Vaccine* v.21, p. 2862-2870, 2003.
- PENA, L.J.; PENNA, D.A.; Priscilla Rochele BARRIOS, P.R.; Renato DALE, R.; LAMÉGO, M.R.A.; MORAES, M.P. Levantamento soro-epidemiológico da infecção pelo vírus da Anemia Infecciosa Equina, da Influenza Equina-2 e do Herpesvírus Equino-1 em rebanhos do sul do Estado do Pará, Brasil. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, v. 43, n. 4, p. 537-542, 2000
- SELLON, C.D.; LONG, T. MAUREEN. Equine Influenza Infection. *Equine Infectious Diseases*, cap.12, p.124-134, 2007.
- SELLON, C.D.; LONG, T. MAUREEN. Immunoprophylaxis. *Equine Infectious Diseases*, cap.70, p.556-570, 2007.

