


Arbovírus em primatas não-humanos mantidos cativos na Amazônia Paraense

 <https://doi.org/10.56238/sevened2024.007-036>

Marcella Katheryne Marques Bernal

Doutora em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Instituto Evandro Chagas.

Giselle Almeida Couceiro

Doutoranda em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia.

Jannifer Oliveira Chiang

Doutora em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, Instituto Evandro Chagas.

André Antônio Correa das Chagas

Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Evandro Chagas.

Vânia Pinto Sarmiento

Doutoranda em Virologia, Instituto Evandro Chagas.

Lucas Tainã Amorim Monteiro

Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural da Amazônia

Larissa Pereira Rodrigues

Mestre em Animais Selvagens, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Ligia Souza Lima Silveira da Mota

Doutora em Ciências Biológicas – Genética, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Washington Luiz Assunção Pereira

Doutor em Ciências Biológicas, Universidade Federal Rural da Amazônia.

RESUMO

Investigações sobre a sanidade e a inter-relação homem-animal-meio ambiente possibilitam o registro de agentes etiológicos de caráter zoonótico, como é o caso dos arbovírus e, em relação aos primatas não-humanos (PNH), a Amazônia se destaca por possuir uma rica diversidade desses animais que podem ser hospedeiros em potencial para arbovírus. Nesse aspecto, o trabalho objetivou avaliar a ocorrência de arboviroses em PNH cativos no Estado do Pará. Para tanto, foram utilizadas amostras de sangue de 43 espécimes oriundos de duas instituições mantenedoras no Estado do Pará. Os soros foram analisados no Laboratório de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas, Estado do Pará. Foi usado o teste de Inibição de Hemaglutinação e teste de neutralização. Das análises, 25 (58,14%) apresentaram positivos para um ou mais dos 19 arbovírus testados, sendo 68% (17/25) fêmeas e 32% (8/25) machos. Aos resultados, 71,43% (20/28) dos animais que compartilhavam o mesmo recinto, e 33,33% (5/15) dos que habitavam na quarentena foram positivos. Também, das 25 amostras soropositivas para arbovírus, 20 (80%) tiveram reações monotípicas e 12 (48%) heterotípicas para Flavivírus. Apenas uma amostra apresentou titulação ≥ 1280 para arbovírus Oropouche, sendo submetida ao teste de neutralização, cujo resultado do Índice de Logarítmico de $\geq 1,9$ sendo considerada positiva, sugerindo que tal primata apresenta uma infecção recente. A presença de anticorpos para os principais arbovírus de ocorrência na Amazônia em PNH, devido à expressão da imunidade, sugere que tais animais foram infectados pelos vírus em alguma fase de vida, podendo manter um ciclo enzoótico.

Palavras-chave: Arboviroses, Primatas, Cativo.

1 INTRODUÇÃO

Os Arbovírus são microorganismos virais que ocorrem de forma endêmica ou epidêmica (LEÃO, 1997), as famílias que podem acometer tanto humanos quanto animais são: Flaviviridae, Reoviridae, Rhabdoviridae, Bunyaviridae e Togaviridae (RUTS, 2012).

Seus registros geralmente envolvem um ambiente silvestre, sendo transmitido através da picada de artrópodes hematófagos ou de hospedeiro invertebrado para invertebrado por via transovariana ou sexual (LEÃO, 1997). Os animais silvestres infectados por arbovírus são normalmente assintomáticos, porém em humanos, a sintomatologia dependerá da natureza do vírus, causando desde febre benigna a encefalites, podendo levar ao óbito (CLETON et al., 2002; CASSEB et al., 2013).

Esses microorganismos exibem uma ocorrência preferencial em regiões tropicais e subtropicais, no Brasil, ocorrem 210 tipos diferentes de arbovírus, onde 200 foram isolados pela primeira vez na região Amazônica, sendo que 34 são patogênicos para humanos (AZEVEDO et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2010).

A Amazônia possui mais de 100 espécies e subespécies de primatas (KIERULFF et al., 2005) e, devido a essa grande diversidade, ainda há muito a ser esclarecido sobre a ecologia e sanidade desses animais (MELLO, 1995; DINIZ, 1997), o que vem a contribuir para o desconhecimento desses serem potenciais hospedeiros para doenças zoonóticas e assim estabelecerem um ambiente enzoótico. Deste modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar a presença de anticorpos para arbovírus em primatas não-humanos (PNH) de cativeiros no Estado do Pará.

2 METODOLOGIA

A pesquisa foi aprovada pelo SISBIO nº 40309-1 e pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural da Amazônia nº 032012-301. Foram examinados 43 animais entre jovens e adultos (15 animais de quarentena e 28 de recintos compartilhados), pertencentes às famílias: Cebidae, Aotidae, Atelidae e Pitheciidae, oriundos de duas instituições mantenedoras de fauna silvestre no Estado do Pará.

Para a colheita de sangue cada animal foi capturado com auxílio de puçá e em seguida contido fisicamente. Em alguns casos foi necessário o uso de sedativos (Ketamina 10mg/kg, Midazolam 0,2 mg/Kg e Levomepromazina 0,2 mg/Kg) por via intramuscular (CUBAS, 2007). A colheita foi única realizada na veia femoral direita ou esquerda, utilizando seringa e agulha estéreis, num volume de 2 a 5 mL de sangue por animal, segundo porte/espécie animal e, posteriormente centrifugado para a obtenção do soro, que foi acondicionado em eppendorf a -20 °C, permanecendo armazenado até o processamento sorológico.

O processamento e análise sorológica das amostras de sangue para ocorrência de Arbovírus foi realizado pelo Laboratório de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas

(IEC). Para tal procedimento optou-se pelo teste de inibição da hemaglutinação (IH), sendo realizado segundo a técnica descrita por Clark e Cassals (1985) e adaptada para microplacas por Shope (1963), utilizando um painel com 19 antígenos diferentes de arbovírus de maior ocorrência na Amazônia (Tabela 1).

Tabela 1 - Painel de antígenos de arbovírus utilizado no teste de Inibição da Hemaglutinação

| FAMÍLIA/GÊNERO | | | |
|-----------------------|-----------------------|----------------------------|------------------------|
| <i>Togaviridae</i> | <i>Flaviviridae</i> | <i>Bunyaviridae</i> | |
| (<i>Alphavirus</i>) | (<i>Flavivirus</i>) | (<i>Orthobunyavirus</i>) | (<i>Phlebovirus</i>) |
| VEEE | VFA | VGUA | VICO |
| VWEE | VILH | VTAC | - |
| VMAY | VSLE | VMAG | - |
| VMUC | VCPC | VUTI | - |
| - | VBUS | VCAR | - |
| - | VROC | VORO | - |
| - | - | VCAT | - |
| - | - | Vírus Belém | - |

VEEE: Vírus da encefalomielite equina leste; VWEE Vírus da encefalite equina oeste; VMAY: Vírus Mayaro; VMUC: Vírus Mucambo; VFA: Vírus da febre amarela; VILH: Vírus Ilhéus; VSLE: Vírus da encefalite Saint Louis; VCPC: Vírus Cacipacore; VBUS: Vírus Bussuquara; VROC: Vírus Rocio; VGUA: Vírus Guaroa; VTAC: Vírus Tacaiuma; VMAG: Vírus Maguari; VUTI: Vírus Utinga; VCAR: Vírus Caraparu; VORO: Vírus Oropouche; VCAT: Vírus Catú; Vírus Belém; VICO: Vírus Icoaraci.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2023.

Os soros foram previamente tratados com acetona PA para possibilitar a concentração das proteínas e a retirada de inibidores naturais, assim como adsorvido com hemácia de ganso para remoção de hemaglutininas inespecíficas. Após tratamento, os soros foram triados (título 1:20), com as amostras positivas tituladas (1:40 a \geq 1:1280).

O teste de neutralização (TN) foi utilizado para os soros que apresentaram reação cruzada de uma mesma família e gênero no teste de IH, empregando diluições constantes de soro e diluições seriadas de dez vezes do vírus (CASALS, 1967). Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram o índice logarítmico de neutralização (ILN) maior ou igual a 1,8 DL50/0,02 mL.

Os dados obtidos foram tabulados e analisados pelo programa estatístico SAS (2000), através do Teste Exato de Fisher, com nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos animais, 58,14% (25/43) exibiram positividade para um ou mais dos arbovírus testados. As fêmeas apresentaram maior soropositividade (68%) que os machos (32%), havendo diferença

estatística significativa. Quanto ao tipo de recinto, 33,33% (5/15) eram de quarentena e 71,43% (20/28) de recintos compartilhados (Tabela 2).

Tabela 2 - Resultado do teste de Inibição de Hemaglutinação em primatas não-humanos mantidos cativos em instituições no Estado do Pará, conforme o sexo e o recinto em que habitavam.

| NÚMERO DE PRIMATAS | | ARBOVÍRUS POSITIVO (%) |
|-----------------------|----|------------------------|
| Sexo | | |
| Macho | 21 | 32 (8/25) |
| Fêmea | 22 | 68 (17/25) |
| Recinto | | |
| Quarentena | 15 | 33,33 (5/15) |
| Recinto compartilhado | 28 | 71,43 (20/28) |

Fonte: Elaborada pelos autores, 2023.

Ainda se verificou soropositividade ≥ 20 no teste de IH para arbovírus em sete espécies de PNH que são: *Atelles marginatus*, *Atelles paniscus*, *Cebus albifrons*, *Chiropotes albinasus*, *Chiropotes Satanas*, *Leontopithecus chrysomelas* e *Sapajus apella* (Tabela 3).

Tabela 3 - Frequência de soropositividade para arbovírus conforme a espécie de primata não-humano.

| Espécie | ARBOVÍRUS(%) | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------|------|------|------|-------|------|------|------|------|------|------------|
| | EEE | WEE | MAY | MUC | ILH | ICO | SAO | CAC | BUS | ORO | Flavivírus |
| <i>Atelles marginatus</i> | 2,33 | | | | | | 2,33 | 2,33 | | 2,33 | 4,66 |
| <i>Atelles paniscus</i> | | | 2,33 | | | 2,33 | | | | | 6,99 |
| <i>Cebus Albifrons</i> | | | | | | | | | 4,66 | | 2,33 |
| <i>Chiropotes albinasus</i> | 2,33 | | | | | | | | | | |
| <i>Chiropotessantanas</i> | 2,33 | | | | | 2,33 | | | | | 4,66 |
| <i>Leontopithecus chrysomelas</i> | | | | | 6,99 | 2,33 | | | | | |
| <i>Saimiri sciureus</i> | | | | | 2,33 | | | | | | |
| <i>Sapajus apella</i> | | 2,33 | | 2,33 | 2,33 | | | | 2,33 | | 9,32 |
| TOTAL | 6,99 | 2,33 | 2,33 | 2,33 | 11,65 | 6,99 | 2,33 | 2,33 | 6,99 | 2,33 | 27,96 |

EEE = encefalite equina lesta; WEE = encefalite equina oeste; MAY = mayaro; MUC = mucambo; ILH = ilhéus; ICO icoaraci; SÃO = são luiz; CAC = cacipore; BUS = bussquara; ORO = oropouche. Fisher = 0,0005648; P=0, 0,2810.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2023.

Das 25 soropositivas para arbovírus, 12 (48%) tiveram reações heterotípicas para Flavivírus e 20 reações monotípicas (80%) para EEE, WEE, MAY, MUC, ILH, SÃO, BUS, ORO e ICO (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultado da titulação do teste de IH para espécies de arbovírus em primatas não-humanos cativos em municípios do Estado do Pará.

| ARBOVÍRUS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------|------------|---|-----|------|-----|------|-----|------|---|---|-----|------|------|---|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|------|------|-------|-------|
| Titulação HI resultado | Flavivírus | | E E | | WEE | | MAY | | | | MUC | | ILH | | SAC | | CAC | | BUS | | ORO | | ICCO | | TOTAL | |
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| 20 | - | - | 2 | 4,66 | - | - | 1 | 2,33 | - | - | - | - | - | - | 1 | 2,33 | 1 | 2,33 | 3 | 6,99 | - | - | - | - | 8 | 18,64 |
| 40 | - | - | 1 | 2,33 | 1 | 2,33 | 2 | 3,33 | - | - | 1 | 2,33 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 | 4,66 | 5 | 11,65 |
| 80 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 2,33 | 1 | 2,33 |
| 160 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 4 | 9,33 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 4 | 9,33 |
| 320 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 2,33 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 2,33 |
| 640 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 1280 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 2,33 | - | - | 1 | 2,33 |

Nesse estudo, apenas uma amostra foi positiva para o arbovírus Oropoche em *Atelles marginatus* se apresentou com titulação de IH ≥ 1280 , sendo submetida para o teste de Neutralização, cujo resultado do índice de logarítmico de neutralização (ILN) foi de $\geq 1,9$ sendo consideradas amostras positivas com ILN $\geq 1,7$. Assim, podendo sugerir que tal PNH apresenta uma infecção recente para ORO.

Os arbovírus podem estar presentes em todos os representantes das ordens dos vertebrados (MURRAY et al., 2006). Nesse cenário, a Amazônia recebe destaque por possuir uma grande diversidade de fauna tanto de invertebrados hematófagos como de vertebrados silvestres, o que torna a região Amazônica a maior reserva de arbovírus do mundo (TRAVASSOS DA ROSA et al., 1997; VASCONCELOS et al., 2001).

O alto percentual (58,14%) de PNH reagentes a presença de anticorpos para os principais arbovírus de ocorrência na Amazônia, demonstra que tais animais foram infectados em alguma fase de sua vida. Particularmente, a ocorrência de Flavivírus nas amostras analisadas é um indicativo da circulação do mesmo entre PNH no Estado do Pará. Onde algumas espécies desses vírus apresentam neurotropismo em humanos. Lembrando que os arbovírus podem circular entre animais domésticos e no homem de forma inaparente, de modo que manifestações clínicas podem ocorrer quando estes entram em contato com nichos silvestres em que os arbovírus circulam ativamente (FIGUEIREDO, 2000).

Poucos estudos envolvendo o tema em PNH foram feitos no Brasil. Laroque et al. (2014) observaram que 46 de 100 (46%) animais apresentaram soropositividade para arbovírus em *Cebus albidinosus*, já em *Cebus flavius* de quarentena, não houveram casos positivos (0/31), sugerindo que os PNH cativos que estão conglomerados estejam menos suscetíveis a vetoração de mosquitos. O fato foi verificado na presente pesquisa, onde houve uma diferença significativa nos resultados, sendo uma positividade de 33,33% (5/15) para animais mantidos em quarentena, e 71,43% (20/28) para os mantidos em recinto, indicando uma diferença na circulação do vírus, tendo em vista que animais de quarentena obtiveram pouco tempo de captura quando comparados aos animais de recintos.

Batista et al. (2012), no Estado do Mato Grosso do Sul, avaliaram 62 espécimes silvestres, dentre elas, *Allouata caraya*, *Callicebus donacophilus* e *Sapajus apella*, com 48,65% de positividade para ORO, MAY, Alphavírus e Flavivírus no teste de IH. Resultado semelhante ao obtido no presente estudo. Estudos em *Cebus libidinosus* do nordeste brasileiro mostrou positividade sorológica para arbovírus no teste de IH, para as espécies: EEE, WEE, MAY, MUC, YF, ILH, SLE, ROC e ORO, sendo que em um animal proveniente da cidade de Belém/Pará foi isolado o WEE (LAROQUE et al., 2014). Experimentos com PNH infectados artificialmente pelo vírus Ilhéus, exibiram o desenvolvimento de uma alta porcentagem de mortalidade nesses animais (PINHEIRO; TRAVASSOS DA ROSA, 1994).

Assim como, o presente estudo verificou positividade sorológica para os arbovirus com reações monotípicas para os vírus EEE, WEE, MAY, ILH, ICO, SÃO, BUS, ORO e heterotípicas para Flavivírus, em representantes da família cebidae: *S. apella*, *Atelles marginatus*, *A. paniscus*, *Cebus albifrons*, *Saimiri sciureus*, *Leontopithecus chrysomelas*. Resultados inéditos para as cinco últimas espécies de cebídeos e, para *Chiropotes satanas* e *C. albinasus* com EEE, e a última espécie de chiropotidae com ICO e Flavivírus. Convêm ressaltar que o vírus Oropouche da família Bunyaviridae que no presente estudo teve ocorrência de 2,33% e alta titulação no teste de HI (1280) é considerado a segunda espécie, dentre os arbovírus, que causa infecção sistêmica aguda febril em humanos na zona urbana brasileira, sendo uma zoonose viral emergente (MURPHY, 1998). Seu ciclo pode ser silvestre com animais assintomáticos para tal virose destacando PNH e cingulatas, e no urbano os principais vetores são os *Culicoides* sp. e *Culex p.* (LEÃO, 1997).

Um espécime estudado, *A. marginatus* assintomático, proveniente de apreensão de resgate de fauna e que após quarentena passou a conviver em recinto de visitação com outros da mesma espécie, apresentou ILN de $\geq 1,9$, sugerindo que tal animal, quando virêmico, pode servir como uma potencial fonte de infecção, caso haja o invertebrado hematófago, para os demais PNH, assim como para os visitantes e trabalhadores dos zoológicos.



4 CONCLUSÃO

A presença de anticorpos para os principais arbovírus de ocorrência na Amazônia em primatas não-humanos, devido à expressão da imunidade específica, sugere que tais animais foram infectados pelos vírus em alguma fase de sua vida, podendo estar mantendo um ciclo enzoótico.

Além disso, foi observado durante o estudo, um espécime de *A. marginatus* assintomático proveniente de resgate que, posteriormente, foi direcionado ao recinto de visitação, e devido a sua condição de saúde, criou-se a hipótese de que caso haja o invertebrado hematófago vetor, este animal, quando virêmico, pode server como uma potencial fonte de infecção tanto para outros animais como para seres humanos visitantes evidenciando a necessidade de estudos sobre as arboviroses em primatas não humanos cativos, tendo em vista o potencial zoonótico de diversas espécies desses vírus e o método de transmissão em animais que vivem em recinto compartilhado.

Também, este foi o primeiro registro de evidência da circulação do Flavivírus para a espécie *Atelles marginatus* no Estado do Pará, o que evidencia a adaptação do vírus para espécies diferentes, justificando novas pesquisas.



REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, R. S. S. et al. Arboviroses. In: Infectologia Pediátrica. FARHAT, C. K. et al. (eds). 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2007. p 533-51.
- BATISTA, P. M. et al. Soroepidemiological monitoring in setinel animals and vectors as part of arbovirus surveillance in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. v.45. n.2. p.168-173. 2012.
- CASALS, J. Immunological techniques for animals viruses. In: Methods in Virology. MARAMOROSH, K.; KOPROWSKI, H. (eds.) New York, Academic Press, v.3.p.75-81. 1967.
- CASSEB, A. R. et al. Arbovírus: importante zoonoses na Amazônia Brasileira. Vet. Zootec., v. 20, n.3, p. 9-21. 2013.
- CUBAS, Z. S. et al. Tratado de animais selvagens. São Paulo: Roca, p.238, 2007.
- CLARKE D. H.; CASALS, J. Technique for hemagglutination and hemagglutination inhibition with arthropod-borne viruses. The Am J Trop Med Hyg., v. 7, p. 561-573, 1958.
- CLETON, N. et al. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. J Clin Virol. v. 55, n. 3, p. 191-203, 2012.
- FIGUEIREDO, L. T. M. The brazilian flaviviruses. Microbes and Infections. p.1643-1649, 2000.
- DINIZ, L. S. M. Primatas em cativeiro manejo e problemas veterinários. São Paulo, Ícone, p.196. 1997.
- KIERULFF, M. C. M. et al. Manejo para conservação de Primatas Brasileiros. In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE PRIMATOLOGIA, 2005. Porto Alegre. Anais do XI Congresso Brasileiro de Primatologia, 2005, vol.10.
- LAROQUE, P. O. et al. Levantamento soroepidemiológico para arbovírus em macaco-prego-galego (*Cebus flavius*) de vida livre no Estado da Paraíba e em macaco-prego (*Cebus libidinosus*) de cativeiro do Nordeste do Brasil. Pes. Vet. Bras. v.34, n. 5, p. 462-468, 2014.
- LEÃO, R.N.Q. Doenças Infeciosas e Parasitátia: Enfoque Amazônico. Cejup. UEPA. Belém. p. 207-225, 1997.
- MELLO, M. T. Treinamento em primatologia no Brasil. Rev. Bras. Ciênc. Vet. v., n. 3, p. 69-74, 1995.
- MURPHY, F. A. Emerging zoonosis. Emerg. Infect. Dis. v. 4. p. 429-435, 1998.
- PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. Arboviral zoonoses of Central and South American. Parte E. Ilhéus Fever. In: Handbook of Zoonoses. Section B: Viral. 2ºEd. Beran George. EUA. CRC. Press. p.210-212. 1994.
- MURRAY, P. R. et al. Togavírus e Flavivírus. Microbiologia Médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 623-634p. 2006.
- SHOPE, R. E. The use of micro-hemagglutination-inhibition test to follow antibody response after arthropod-borne virus infection in a community of forest animals. Ann Microbiol. v. 1, n. 11, p. 167-17, 1963.



RUST, R. S. Human arboviral encephalitis. *Semin Pediatr Neurol*. v. 19, n. 3, p. 130-51, 2012.

TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. et al. Arboviroses. In: LEÃO, R. N. Q. *Doenças infecciosas e parasitárias - enfoque amazônico*. Belém: CEJUP; UEPA. Instituto Evandro Chagas. p. 207-2225. 1997.

VASCONCELOS, P. F. C. et al. Epidemiologia das encefalites por arbovírus na Amazônia Brasileira. *Rev. Inst. Med. Trop.* v. 33, n. 6, p. 465-476, 1991.

VASCONCELOS P. F. C. et al. Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. *Cad. Saúde Pública*. v. 17, p. 155-164, 2001.