



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO – UFRPE
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DE SAÚDE
EM MEDICINA VETERINÁRIA

BÁRBARA FERREIRA DE ALMEIDA

**CULTIVO E LINHAGENS CELULARES APLICADAS NA
BIOTECNOLOGIA E NO DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO DA
MEDICINA VETERINÁRIA: REVISÃO DE LITERATURA**

**Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva – Viroses dos Animais
Domésticos**

RECIFE, 2023

BÁRBARA FERREIRA DE ALMEIDA

**CULTIVO E LINHAGENS CELULARES APLICADAS NA
BIOTECNOLOGIA E NO DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO DA
MEDICINA VETERINÁRIA: REVISÃO DE LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Residência
apresentado ao Programa de Residência
em Área Profissional de Saúde em
Medicina Veterinária da UFRPE como
requisito para a obtenção do título de
Especialização em Medicina Veterinária
Preventiva – Área de Concentração:
Viroses dos Animais Domésticos.

Tutor: Prof Dr. José Wilton Pinheiro Junior.
Preceptor(a): Prof^a. Dra.Rita De Cássia Carvalho de Maia.

RECIFE, 2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A447c Almeida, Bárbara Ferreira de
CULTIVO E LINHAGENS CELULARES APLICADAS NA BIOTECNOLOGIA E NO DIAGNÓSTICO
VIROLÓGICO DA MEDICINA VETERINÁRIA: REVISÃO DE LITERATURA / Bárbara Ferreira de Almeida. - 2023.
53 f.

Orientador: Jose Wilton Pinheiro Junior.
Inclui referências e apêndice(s).

Trabalho de Conclusão de Curso (Residência) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Residência em Área
Profissional de Saúde em Medicina Veterinária, Recife, 2023.

1. Isolamento viral. 2. Virologia. 3. Práticas laboratoriais. 4. Soro Fetal. I. Junior, Jose Wilton Pinheiro, orient. II.
Título

CDD 636.089

Texto aprovado em 27 de Fevereiro de
2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior
Departamento de Medicina Veterinária –
UFRPE Presidente da banca/Tutor

Dr. Sérgio Alves do Nascimento
Departamento de Medicina Veterinária –
UFRPE Membro Titular 1/Preceptor

Dra. Amanda Mota Vieira
Departamento de Medicina Veterinária_
Laboratórios Membro Titular 2

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria agradecer à Deus, Àquele que é o todo e o tudo, que é meu amigo e parceiro em todas as jornadas. Gratidão à minha família que sempre me apoia e aos amigos sempre presentes, em especial à Edna, minha amiga de fé e que se fez presente nos bons e maus momentos; Thamyris obrigada por ter me sustentado, por sempre estar presente, por compartilhar, nossa amizade só cresceu e se fortaleceu. E a Beatriz Nascimento pela amizade de longas jornadas, e à Clara, Julianna e aos demais amigos da gangue que sempre me trouxeram boas risadas e companhia nestes dois anos. Um agradecimento especial às minhas amigas Duda Melo e Duda Oliveira por sempre se fazerem presentes na correria. Agradeço às minhas amigas do “Friends forever” pelo apoio incondicional.

Aos amigos que a residência me trouxe também não poderia esquecer, meu R2 que agora é mestrando Davi, obrigada pela paciência, pelos memes, e parceria ao longo de tantos anos antes mesmo da residência. Minha R1 Jerlane desenrolada, maravilhosa, obrigada pela companhia na reta final, espero que eu tenha ajudado. Aos meus colegas residentes da hora do almoço: Thamyris, Lucas, Carol, Catarina, Diego, Livia, Rafaela, Íris, Antônio, Angélica, Juliany, Grayce e todos os outros, muito obrigada por compartilhar o dia a dia, os fardos, e algumas cervejas no happy hour.

À primeira professora que me acolheu e me fez amar laboratórios: Marliete Soares.

Aos meus eternos mestres e queridíssimos professores: José Wilton Jr e Rita Maia, meus orientadores de área e de vida gratidão por tudo, por tantos momentos bons, passeios e ensinamentos. Gratidão aos professores que passam no corredor: Andrea Alice, Betânia, Jean Carlos, Luciana e Erika, obrigada pelos ensinamentos, pela companhia, por dividir o cafezinho, pelos puxões de orelha e pelas risadas. Guardarei a todos com carinho, e contarei sobre vocês nas minhas histórias no futuro. Os desejo sucesso e felicidade.

Um especial obrigado aos meus companheiros diários de rotina laboratorial do LAVIAN: Sérgio e Inês.

Ao pessoal da pós-graduação e alunos do laboratório: Amanda Noronha, Amanda Mota, Maria Nazaré, Ciel, Clara gratidão pela companhia e memes.

Aos funcionários da UFRPE: Sandra, Cleidinha, Irmã Creide, Professor Aderaldo muito obrigada pelo apoio e carinho.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 Teste de ELISA com reação enzimática (amarelo)	p. 13
FIGURA 2 Leitura de Teste de IDGA em foco luminoso com fundo escuro	p. 14
FIGURA 3 Teste rápido de FIV e FeLV. (A) e (B) animais positivos para FeLV	p. 15
FIGURA 4 Teste de Rivalta formando precipitado em gota (positivo)	p. 16
FIGURA 5 Realização de coleta e teste de Cinomose Ag em abrigo para o projeto	p. 18
FIGURA 6 (A) Coleta de sangue de felino; (B) Coleta de sangue de canino e (C) Coleta de <i>swab</i> de orofaringe em felino	p. 19
FIGURA 7 Cartilhas educativas produzidas pela equipe do LAVIAN	p. 20
FIGURA 8 Atividade do Programa de Educação em Saúde para tutores no HOVET no período de abril a dezembro de 2022	p. 20
FIGURA 9 Realização de passagem celular durante treinamento	p. 21
FIGURA 10 (A) Preparação da “mecha” para captura de amostra de água do Córrego na Encruzilhada (B) e (C)	p. 25
FIGURA 11 (A) Ficha de preenchimento sobre a coleta da água com endereço, hora e data da coleta, medição de cloro no momento; (B) Coleta de água encanada pela ASACE na área externa de um condomínio residencial; (C) Coleta de água em poço artesanal de escola pública para envio ao LACEN; (D) Máquina específica medidor de cloro	p. 25
FIGURA 12 (A) Campanha de Vacinação no DS II; (B) Campanha de vacinação no DS I	p. 26
FIGURA 13 Residentes ajudando na organização de posto itinerante na Associação de Moradores de Dois Unidos	p. 27
FIGURA 14 (A) Larvas de <i>Aedes aegypti</i> em tubo com álcool; (B) ASACE realizando captura com ovitrampa em residência parceira; (C) e (D) Ovitrapas com larvas de mosquitos presas reunidas de todo DS II entregues ao GVACZ	p. 28
FIGURA 15 Visita a paciente idoso doente incapacitado de ir à unidade de saúde	p. 28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac	Anticorpo
Ag	Antígeno
ASACE	Agente de Saúde Ambiental e Controle de Endemias
ACS	Agente Comunitário de Saúde
BVDV	Vírus da Diarreia Viral Bovina
CAEV	Vírus da Artrite Encefalite Caprina
COVID-19	Doença do Coronavírus-19
ELISA	Ensaio de Imunoadsorção Enzimática
FIV	Vírus da Imunodeficiência Felina
FeLV	Vírus da Leucemia Felina
GVACZ	Gerência de Vigilância Ambiental e Controle de Zoonoses
HOVET	Hospital Veterinário da UFRPE
IDGA	Imunodifusão em Gel de Ágar
LACEN-PE	Laboratório Central de Saúde Pública de Pernambuco
LAVIAN	Laboratório de Virologia Animal
LVPR	Lentivirose de Pequenos Ruminantes
MDCK	Células Caninas Renais Mandin-Darby
NASF	Núcleo de Apoio à Saúde da Família
PMPSU	Programa de Mestrado Profissional em Saúde Única
pH	Potencial Hidrogeniônico
PIF	Peritonite Infecciosa Felina
SEDA	Secretaria Executiva dos Direitos Animais (PE)
SISÁGUA	Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
WOAH	Organização Mundial da Saúde Animal

RESUMO

Objetivou-se com este Trabalho de Conclusão de Residência (TCR) descrever as atividades da residência em Medicina Veterinária Preventiva - Virologia Animal, desenvolvidas no Laboratório de Virologia Animal (LAVIAN), na área de Medicina Veterinária Preventiva - Virologia Animal, assim como realizar uma revisão de literatura sobre cultivo celular. Durante o período de residência foram cursadas disciplinas obrigatórias, divididas em: núcleo comum obrigatório a todas as áreas, núcleo específico da área de concentração e núcleo comum da área de concentração. No LAVIAN foram desenvolvidas atividades de treinamento de coleta e processamento de material biológico; técnicas de diagnóstico aplicadas ao diagnóstico das doenças virais; interpretação de resultados; aplicação das normas de biossegurança e organização laboratorial de materiais, reagentes, amostras e patrimônios. Além das atividades teóricas e práticas no LAVIAN foram desenvolvidas atividades no Sistema de Saúde Única (SUS), nas seguintes áreas: Vigilância Sanitária, Vigilância Epidemiológica e Vigilância Ambiental. O programa de residência é importante para construção de uma carreira profissional mais sólida, direcionado à uma especialidade, e de onde nascem muitos ensinamentos profissionais e pessoais. A técnica de cultivo celular e as diferentes linhagens celulares são de extrema importância para a Biotecnologia na área de saúde humana e na Medicina Veterinária. O seu aprimoramento ao longo dos anos proporcionou para a biologia molecular e para virologia diagnósticos mais precisos e produtos mais eficientes.

Palavras-chave: Residência multiprofissional; Virologia animal; Sistema Único de Saúde (SUS).

ABSTRACT

The objective of this Residency Conclusion Work (TCR) was to describe the activities of the residency in Preventive Veterinary Medicine - Animal Virology, developed in the Laboratory of Animal Virology (LAVIAN), in the area of Preventive Veterinary Medicine - Animal Virology, as well as to perform a literature review on cell culture. During the residency period compulsory subjects were studied, divided into: common core mandatory for all areas, specific core of the concentration area and common core of the concentration area. At LAVIAN training activities were developed on collection and processing of biological material; diagnostic techniques applied to the diagnosis of viral diseases; interpretation of results; application of biosafety rules and laboratory organization of materials, reagents, samples and assets. Besides the theoretical and practical activities at LAVIAN, activities were developed at the Brazilian National Health System (SUS), in the following areas: Health Surveillance, Epidemiological Surveillance and Environmental Surveillance. The residency program is important for building a more solid professional career, directed to a specialty, and from where many professional and personal teachings are born. The cell culture technique and the different cell lines are extremely important for Biotechnology in human health and in Veterinary Medicine. Its improvement over the years has provided molecular biology and virology with more precise diagnoses and more efficient products.

Keywords: Multiprofessional residency; Animal virology; Brazilian National Health System (SUS).

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: RELATÓRIO DESCRITIVO DAS ATIVIDADES.....	10
INTRODUÇÃO.....	11
1. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES TEÓRICAS E PRÁTICAS DO PROGRAMA DE RESIDÊNCIA RELACIONADAS À ÁREA DE CONCENTRAÇÃO	12
1.1 Disciplinas cursadas	12
1.2 Atividades desenvolvidas no Laboratório de Virologia Animal.....	12
1.2.1 Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)	12
1.2.2 Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA)	13
1.2.3 Isolamento viral e Cultivo celular.....	14
1.2.4 Imunocromatografia (Teste rápido).....	15
1.2.5 Teste de Rivalta	15
1.2.6 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).....	16
1.2.7 Gráfico das Técnicas mais realizadas.....	17
1.3 Atividades de pesquisa.....	17
1.4 Aula para discentes de graduação	18
1.5 Organização de eventos.....	18
1.6 Produção científica	18
1.7 Projetos de Extensão.....	20
1.8 Participação de eventos.....	21
1.9 Outras atividades de treinamento.....	21
CAPÍTULO II: RELATÓRIO DESCRITIVO DAS ATIVIDADES DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE.....	22
2. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DE SERVIÇO EM SAÚDE DESENVOLVIDAS NO CENTRO DO DISTRITO SANITÁRIO II	23
2.1 Monitoramento.....	23
2.2 Vigilância da Qualidade da Água (VIGIÁGUA).....	24
2.3 Campanha de Vacinação Antirrábica	26
2.4 Ações de enfrentamento na pandemia de COVID-19	26
2.5 Envio de amostras e distribuição de materiais.....	27
2.6 NASF (Núcleo de apoio à Saúde da Família).....	28
CAPÍTULO III: CULTIVO E LINHAGENS CELULARES APLICADAS NA BIOTECNOLOGIA E NO DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO DA MEDICINA VETERINÁRIA: REVISÃO DE LITERATURA.....	29
RESUMO.....	30
ABSTRACT.....	30
1.INTRODUÇÃO.....	31
2. CULTIVO CELULAR.....	32
3. CONCLUSÃO.....	38
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
APÊNDICE 1.....	47

CAPÍTULO I: RELATÓRIO DESCRITIVO DAS ATIVIDADES

INTRODUÇÃO

A partir do ano de 2005 foi instituído por meio de lei no Brasil os Programas de Residência Multiprofissional em Área de Saúde, onde profissionais de diferentes áreas de saúde foram recrutados para prestar um melhor atendimento à população nas diferentes regionalidades e para preencher as vagas tão necessitadas. Dentre eles, o Médico Veterinário estaria apto a participar do programa de especialização e profissionalização que possui uma vigência de dois anos, inseridos no contexto ensino-escola, da saúde pública e no cuidado com os animais.

O Programa de Residência em Área Profissional de Saúde em Medicina Veterinária da UFRPE é destinado a graduados Bacharel em Medicina Veterinária, com duração total de dois anos, podendo ser prorrogado em casos especiais. A sua carga horária é de 5.760 horas divididas em atividades práticas (4.608 horas) e teóricas (1.152 horas). Os profissionais residentes são orientados por um tutor e preceptor designados da área de concentração escolhida pelo profissional. São 11 (onze) áreas de concentração no edital destinado à UFRPE, divididas em: Clínica Médica Cirúrgica; Clínica Geral; Medicina Veterinária Preventiva (Bacterioses; Doenças Parasitárias; Saúde Pública e Víroses); Anestesiologia Veterinária; Clínica Médica; Cirúrgica e da Reprodução de Grandes Animais; Patologia Clínica Veterinária e Patologia Veterinária e Diagnóstico por Imagem.

Os residentes passam parte de sua experiência profissionalizante na Vigilância em Saúde (ambiental, epidemiológica e sanitária), afim de entender a importância do papel desenvolvido pelo Médico Veterinário na Saúde Pública, além de acompanhar o funcionamento do NASF (Núcleo de Apoio à Saúde da Família).

Objetiva-se com este Trabalho de Conclusão de Residência (TCR) descrever as atividades desenvolvidas durante o Programa de Residência em Área Profissional de Saúde em Medicina Veterinária da UFRPE, na área de concentração de Medicina Veterinária Preventiva -Virologia Animal. Além de realizar uma breve revisão de literatura sobre cultivo celular.

1. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES TEÓRICAS E PRÁTICAS DO PROGRAMA DE RESIDÊNCIA RELACIONADAS À ÁREA DE CONCENTRAÇÃO

1.1 Disciplinas cursadas

Foram cursadas disciplinas obrigatórias ao entrar na residência, divididas em: núcleo comum obrigatório a todas as áreas, núcleo específico da área de concentração e núcleo comum da área de concentração. O Núcleo Comum Obrigatório (NCO) abrangeu as disciplinas: Bioética e Ética profissional em Medicina Veterinária (45 h); Bioestatística (60 h), Epidemiologia e Medicina Veterinária Preventiva (60h); Metodologia Científica (60 h); Integração Ensino e Serviço (45 h); Políticas Públicas em Saúde (60 h).

No Núcleo Comum de Área de Concentração (NCAC) da Área Preventiva foi acompanhada a disciplina: Procedimentos de Coleta de Material para Diagnóstico de Doenças em Animais (45 h). Como cadeiras optativas, ainda foram cursadas as disciplinas: Nefrologia e Urologia de Pequenos Animais, e Endocrinologia e Metabologia de Pequenos Animais (60 h) do Núcleo Específico da Área de Concentração (NEAC) da área clínica. Já para o Núcleo Específico de Área de Concentração (NEAC) de viroses foram contempladas as disciplinas: Boas Práticas Laboratoriais e Biossegurança e Tópicos Especiais em Virose dos Animais Domésticos.

1.2 Atividades desenvolvidas no Laboratório de Virologia Animal (LAVIAN)

No LAVIAN foram desenvolvidas atividades de treinamento de técnicas de diagnóstico virais, aplicação das normas de biossegurança e organização laboratorial de materiais, reagentes, amostras e patrimônios. Também recebemos amostras de animais da rotina hospitalar do HOVET vinculados aos projetos executados no laboratório, e amostras externas vinculadas a projetos de pós-graduação. As principais atividades executadas durante os dois anos de residência (Março de 2021 a Março de 2023) no LAVIAN estão descritas abaixo.

1.2.1 Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)

O Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) é um teste que tem por princípio a reação entre anticorpos e antígenos em amostras (fluidos) biológicos de animais ou ser humano, e que são detectáveis por reação enzimática visível pela mudança de cor que ocorre durante o teste, como observado na Figura 1 (NETO et al., 2018). Além da mudança de cor visível, alguns

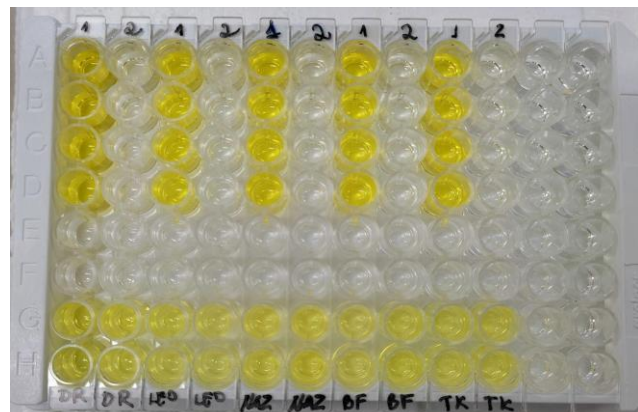
testes (quantitativos) exigem o uso de um equipamento chamado espectrofotômetro.

A sigla vem do inglês “Enzyme-Linked Immunosorbent Assay” e foi descoberta por cientistas no ano de 1959. Em 1974, a proposta do teste era substituir algumas provas de radioimunoensaio por ser mais eficiente, e aos poucos vir a substituir o teste *Western Blot*. É um teste bastante versátil e muito utilizado nos dias atuais para detecção de alérgenos e para rastrear casos de endemias (MIDHUN et al., 2021).

O teste ELISA pode ser direto (pesquisa de antígeno), indireto (pesquisa de anticorpo) e isso faz com que seu escopo de análises seja variável, pois pode ser um teste analítico quantitativo ou qualitativo (PEREIRA, 2019).

Durante a residência foi acompanhada a execução de ELISA indireto em aulas práticas dos discentes do curso de Medicina Veterinária da UFRPE que estavam cursando a disciplina de Viroses dos Animais Domésticos; e também durante a execução do projeto de pesquisa de uma discente da pós-graduação, nível mestrado com o *Virus de Schmallenberg* (SBV).

Figura 1- Teste de Elisa com reação enzimática (amarelo).



Fonte: Almeida, 2021

1.2.2 Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA)

O IDGA é um teste sorológico indireto onde se observa a interação do imunocomplexo formado pelo antígeno e pelos anticorpos presentes no soro do animal infectado (TEIXEIRA et al., 2018).

O teste é um dos mais recomendados pela WOA, sendo considerado padrão-ouro no caso de AIE, e altamente recomendado para LVPR como o vírus da CAE e o vírus Maedi-Visna. O teste apresenta boa sensibilidade e uma alta especificidade, e por ser um teste indireto não diferencia entre os tipos de lentivírus, e isso não interfere de forma alguma na execução do

teste. Seu custo é baixo de fácil execução (SBIZERA et al., 2020). Na rotina do LAVIAN é o teste mais realizado considerando a demanda interna (projetos de pesquisa e extensão), assim como externas (prestação de serviços), exemplo do teste pode ser observado na Figura 2.

Durante o período da residência foram testados aproximadamente 1.200 soros. No ano de 2021, juntamente a um trabalho de mestrado foram produzidos dois artigos baseados nos testes de IDGA e CAEV, intitulados “Levantamento epidemiológico das lentiviroses de pequenos ruminantes no Cariri ocidental paraibano, Nordeste do Brasil” e “Caracterização epidemiológica dos Lentivírus de pequenos ruminantes na região geográfica imediata de Monteiro, Paraíba, Nordeste, Brasil.”, publicados na revista: Research, Society And Development (**Apêndice 1**).

Figura 2- Leitura de Teste de IDGA em foco luminoso com fundo escuro.



Fonte: Almeida, 2022.

1.2.3 Isolamento viral e Cultivo celular

O isolamento viral é um método direto para identificação viral, logo é bastante utilizado pela sua alta especificidade, mesmo sendo uma técnica mais demorada para realização, ela é considerada como padrão ouro para as enfermidades virais. Os vírus, que são intracelulares, produzem efeitos citopáticos específicos (decorrentes da interação célula-vírus, havendo formação de vacúolos ou morte celular) que facilitam a sua pesquisa, visíveis em microscópio (KENNEDY, 2005; FLORES, 2007).

No LAVIAN foi possível acompanhar a cultura de células desde a preparação de meios até a inoculação de amostras com possíveis partículas virais (isolamento celular). As células mais utilizadas na rotina são as de linhagem contínua e aderentes, provenientes ou da ponta de

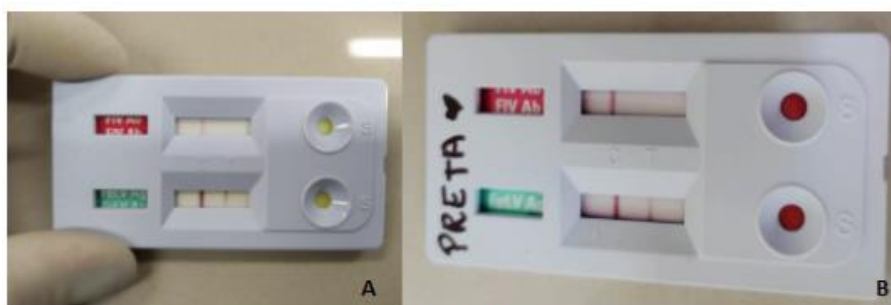
orelha bovina (CFBov), que foram isoladas no LAVIAN ou a linhagem de células MDBK (*Mandin-Darby Bovine Kidney*), originada das células renais bovina, *Bos taurus*.

Durante o início de um experimento de doutorado, foi realizado o isolamento do Vírus do Ectima Contagioso por esta técnica utilizando células da linhagem MDBK. O isolado viral foi confirmado por PCR e sequenciamento genético.

1.2.4 Imunocromatografia (Teste rápido)

Foram realizados testes sorológicos imunocromatográficos, conhecidos como testes rápidos, que são utilizados para identificar a presença de anticorpos ou antígenos a partir de amostra biológica do animal, e possuem tempo de leitura de 5 a 20 minutos para interpretação (SOARES et al., 2020). As doenças contempladas nos testes estavam dentro do projeto de Extensão-Pesquisa do LAVIAN intitulado: “*Estudo epidemiológico das infecções virais de cães e gatos atendidos no Hospital veterinário da UFRPE em Recife*”, com a testagem de 177 animais do início de 2020 a metade de 2022 para as doenças: FIV e FeLV em gatos (Figura 3), e 81 testes de cinomose para cães.

Figura 3- Teste rápido de Fiv e FeLV. (A) e (B) animais positivos para FeLV.



Fonte: Almeida, 2021

1.2.5 Teste de Rivalta

É um teste de triagem para o diagnóstico da Peritonite Infecciosa em Felinos (PIF), teste fácil, rápido e sensível, porém com baixa especificidade, uma vez que detecta uma alta predominância de proteínas no líquido abdominal coletado do animal, mas não detecta antígenos ou anticorpos para o vírus. O teste consiste em: colocar em tubo de vidro limpo pequeno uma mistura entre água destilada (cerca de 7-8mL) e ácido acético na concentração de 100% (1 gota), após isso acrescenta-se uma gota do líquido cavitário abdominal coletado do animal a ser testado, caso ocorra precipitação, se diz que há 85% de chances do animal ser

positivo para PIF (FISCHER et al, 2012).

Porém, o diagnóstico definitivo é realizado *post-mortem* através da imunohistoquímica realizada a partir dos órgãos coletados na necropsia, associado ao histórico clínico (MATTA, 2018).

Na figura 4 observa-se o teste de Rivalta com precipitação, sugestivo de positividade para PIF.

Figura 4 - Teste de Rivalta formando precipitado em gota (positivo)



Fonte: Almeida, 2021

1.2.6 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi uma técnica desenvolvida para amplificar fitas de DNA ou ainda de RNA de patógenos fazendo milhões ou bilhões de fitas, que são minúsculas, a fim de quantificar e sequenciar com a finalidade de identificação genética viral ou de outros patógenos, diagnóstico e/ou desenvolvimento de tratamentos (OLIVEIRA e PEREIRA, 2019).

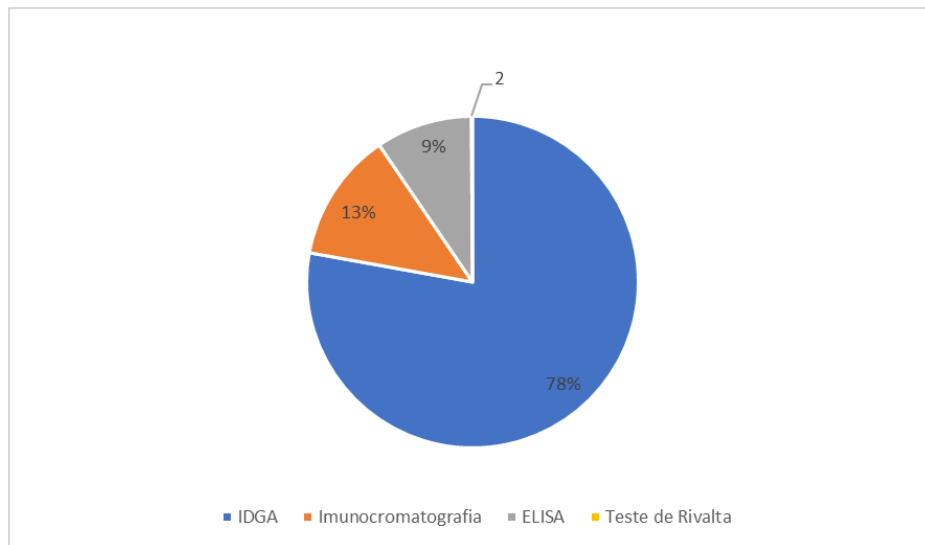
A técnica é amplamente utilizada pela sua alta especificidade e sensibilidade, existem muitas variações da técnica a depender do material genético utilizado e das amostras biológicas coletadas (SANTOS, 2020).

No LAVIAN é uma das técnicas mais utilizadas e foram realizados testes de PCR convencional para Ranavírus, FeLV e Ectima Contagioso durante o acompanhamento de projetos de mestrado e doutorado.

1.2.7 Gráfico das Técnicas mais realizadas

Observa-se no Gráfico 1 as técnicas de diagnóstico mais realizadas no período da residência no LAVIAN. Foram testadas 1.587 amostras no teste de IDGA (78%), 258 amostras em testes Imunocromatográficos (13%), 192 amostras para ELISA (9%). E duas amostras no teste de Rivalta, que não foram representados em porcentagem no gráfico.

Gráfico 1. Quantidade de amostras testadas no LAVIAN nos anos de 2021 e 2022 divididas pelas técnicas diagnósticas.



Fonte: Almeida, 2023.

1.3 Atividades de pesquisa

Foram realizados projetos de extensão-pesquisa durante o período de residência. Como exemplo, o projeto *Estudo epidemiológico das infecções virais de cães e gatos atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE em Recife* em abrigos da Região Metropolitana do Recife, onde foram realizados testes rápidos nos animais, além da aplicação de questionários epidemiológicos sobre a saúde animal; além da conscientização dos tutores dos abrigos sobre as enfermidades virais. Na Figura 5 observa-se o momento de uma das coletas.

Figura 5 - Realização de coleta e teste de Cinomose Ag em abrigo para o projeto.



Fonte: Almeida, 2022

1.4 Aula para discentes de graduação

Foram ministradas duas aulas para os discentes de graduação para despertar a docência no contexto da disciplina Viroses dos Animais Domésticos, sob supervisão dos docentes. As aulas ocorreram no formato síncrono pelo *Google Meet*, sobre as doenças virais da FIV e FeLV e sobre o teste de IDGA.

1.5 Organização de eventos

Realizou-se em novembro de 2021, a organização de um evento *on-line* intitulado II simpósio de experiências em saúde única com três dias de duração, em parceria com o Programa de Mestrado Profissional em Saúde Única – PMPSU, no período de 3 a 5 de novembro de 2021. O tema deste simpósio foi “Doenças Negligenciadas durante a pandemia”, com a realização de mesas redondas, palestras, oficinas e rodas de diálogos direcionadas para os discentes de graduação e pós-graduação, como também docentes de várias áreas de atuação. O segundo evento foi organizado no ano seguinte, por se tratar de um evento anual.

Ao fim de novembro de 2022, nas datas 29 e 30 foi realizado o III Simpósio em Saúde Única focando em Saúde Única no meio ambiente, e também em doenças críticas pós-pandemia e resistência microbiana. As palestras foram realizadas presencialmente na UFRPE para os discentes de graduação e pós-graduação, como também docentes de várias áreas de atuação

1.6 Produção científica

Os residentes de viroses e mestranda de saúde pública, além de outros discentes da área de preventiva foram convidados para participar do projeto de pesquisa multicêntrico *Pet Covid 19*, onde foi necessário coletar amostras de animais como visto na Figura 6 abaixo, que estavam

em contato direto com tutores infectados pelo *Covid19*, na tentativa de identificar o vírus SARS-CoV-2 já que com a pandemia a proximidade entre tutores e animais se tornou ainda maior. Dois animais foram positivos para a presença viral em Pernambuco. Houve uma colaboração na escrita de um artigo ao fim do projeto, intitulado “First report of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 detection in two asymptomatic cats in the state of Pernambuco, Northeastern Brazil. *Veterinary World*”, publicado na revista *Veterinary World* (**Apêndice 1**).

Figura 6 - (A) Coleta de sangue de felino; (B) Coleta de sangue de canino e (C) Coleta de swab de orofaringe em felino.



Fonte: Moraes, 2021

Também foi possível participar da produção e edição do artigo como colaboradora “Diagnóstico comparativo de *Ehrlichia* spp. para construção de soroteca.” junto a colaboradores e que foi publicado no Pubmed em 2021 (**Apêndice 1**).

Durante os anos de 2021 e 2022 foram elaborados quatro *E-books* educativos para o público geral e estudantes, intitulados: FIV e FeLV - Perguntas e Respostas, Lentivirose de Pequenos Ruminantes: Perguntas e Respostas, Cartilha de Conscientização Sobre a Febre Amarela e Guia Prático de Biossegurança para Laboratório (Figura 7).

Foram elaborados três resumos para o evento Medtrop em 2022, que foram apresentados no formato de e-poster em novembro de 2022 durante o evento, intitulados: “Epidemiological analysis of severe cases of human exposure to Rabies in Caruaru, Pernambuco, Brazil.”; “Yellow Fever Contingency Plan in the Surrounding Areas of an Atlantic Forest Reserve in Caruaru-PE” e “Epidemiological study of rabies in dogs and cats from Pernambuco, Brazil” (**Apêndice 1**).

Figura 7 - Cartilhas educativas produzidas pela equipe do LAVIAN



Fonte: Editora Universitária da UFRPE (2021/2022)

1.7 Projetos de Extensão

Foram acompanhados projetos de extensão, um direcionado para a conscientização de tutores no HOVET, onde foram aplicados questionários e distribuídos panfletos falando sobre a importância da prevenção de doenças virais em cães e gatos, bem como uma visão geral sobre cada uma delas (Figura 8).

O outro projeto intitulado “Capacitação dos produtores de caprinos com aptidão leiteira da região Agreste de Pernambuco sobre a Artrite-encefalite Caprina” que consistiu na coleta de soro de caprinos provenientes do agreste de Pernambuco e a análise destas amostras para o CAEV, além de ter abordado sobre a doença junto aos produtores numa vertente de ensino/conscientização. Foram testados 367 animais pelo método IDGA durante o projeto.

Figura 8 - Atividade do Programa de educação em Saúde para tutores no HOVET no período de abril a dezembro de 2022.



Fonte: Almeida, 2022

1.8 Participação em eventos

Participação como ouvinte no congresso RITA 2021 (XXXII Rabies in the Americas Conference), e também como co-autora de e-pôster no congresso intitulado de “Requirement for improvement of human rabies cases notification and treatment in the health system of Caruaru, Pernambuco, Brazil” publicado no evento supracitado. Participação como ouvinte na palestra sobre projeto científico e escrita acadêmica pela UFRPE.

Participação como Palestrante *online* na “Fiv e Felv: aspectos gerais e diagnóstico em Felídeos Silvestres” no evento I Congresso Nordestino de medicina de animais silvestres em agosto de 2022, organizado pelo CESPAMVET.

1.9 Outras atividades de treinamento

Foi realizado 1 (um) mês de treinamento para capacitação no LFDA (Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária) em Recife, Pernambuco com o cultivo celular, o treinamento focou em cultivos para as linhagens de células: N2A (célula neuroblastoma de ratos), MDBK (células de rim de bovinos Madin-Darby) e PK15 (células de rim suíno) (Figura 9). Na oportunidade, todos os processos foram acompanhados e executados desde o início: descongelamento de células, replicação, análise morfológica, controle de cabines de fluxo e de estufa, meios de cultura para verificar presença de fungos ou bactérias no meio de cultivo, tripsinização de células, entre outros.

Figura 9 - Realização de passagem celular durante treinamento.



Fonte: Almeida, 2022

**CAPÍTULO II: RELATÓRIO DESCRITIVO DAS ATIVIDADES
DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE.**

2. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DE SERVIÇO EM SAÚDE DESENVOLVIDAS NO CENTRO DO DISTRITO SANITÁRIO II (DS II)

Os residentes da área de concentração da veterinária cumprem parte da residência multiprofissional no Sistema de Saúde Única (SUS), nas áreas de contemplação: vigilância sanitária, vigilância epidemiológica e vigilância ambiental. São três meses de carga horária (720 horas), equivalentes a 75% da carga horária divididos entre estas três áreas com intuito de conhecer as diversas funções do SUS, sua importância, e a atuação do médico veterinário. Os outros 25% (240 horas) das atividades vividas na Saúde Pública são direcionados ao NASF. As atividades acompanhadas abaixo foram realizadas no município de Recife, Pernambuco, durante o primeiro ano de residência, excepcionalmente, ao invés de dividir nos dois anos por causa da pandemia e da organização dos distritos sanitários.

2.1 Monitoramento

As Vigilâncias Ambiental, Sanitária e Epidemiológica também recebem e investigam denúncias de civis dentro da área de alcance do Distrito II quanto a possíveis surtos de doenças, maus tratos a animais, denúncias de terrenos abandonados com pragas como mosquito da dengue, e também de estabelecimentos.

O Distrito II é responsável pelo bem estar e segurança das pessoas e animais domésticos de 17 bairros: Alto Santa Terezinha, Água Fria, Arruda, Beberibe, Bomba do Hemetério, Campo Grande, Cajueiro, Campina do Barreto, Dois Unidos, Encruzilhada, Fundão, Hipódromo, Linha do Tiro, Ponto de Parada, Porto da Madeira, Peixinhos, Rosarinho e Torreão.

Durante a atuação nas vigilâncias foi possível perceber que cada uma delas possui como uma das suas principais funções o monitoramento seja de estabelecimentos, pessoas ou do meio ambiente para que tudo esteja em perfeita harmonia com a proteção da saúde humana, do saneamento básico e manutenção de serviços de qualidade.

Na Vigilância Ambiental foi realizada a inspeção de água no programa VIGIÁGUA. Além de inspeções ambientais para presença de pragas como ratos, mosquitos da dengue e dirofilariose e as larvas do mosquito *Aedes aegypti* em casas e estabelecimentos. E por isso foram instaladas armadilhas como ovitrampas (para larvas do *Aedes aegypti*); “mechas” para rios e córregos em bairros do Distrito Sanitário II feitas a partir de gaze protegida e ligada a uma corda (para coletar amostras tentando verificar a presença de *Vibrio cholerae*). As

atividades eram realizadas todas sob a supervisão dos ASACES (Agentes de Saúde Ambiental e Combate às Endemias).

Na Vigilância Epidemiológica foram notificadas doenças e agravos no SINAN *online*, sistema onde a ficha de reconhecimento do agravo (doença ou acidente) sofrido pelo paciente atendido na rede pública de saúde é encaminhada para a central administrativa e cadastrada no sistema do SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação). Geralmente as doenças e agravos mais frequentes são as arboviroses como dengue, chikungunya e zika, e acidentes de animais peçonhentos ou venenosos como cobras e escorpiões. Houve também o monitoramento da vacinação antirrábica humana pós-exposição, onde com a posse da ficha encaminhada pela unidade de saúde no qual os pacientes foram atendidos após arranhadura ou mordedura de cão ou gato, e onde o protocolo vacinal ou de soro foi realizado, a vigilância epidemiológica entra em contato com os pacientes que por alguma razão não completaram a vacinação para saber o que houve, se estão bem, e se o animal ao qual foi exposto continua vivo após o ataque.

Na Vigilância Sanitária o monitoramento é mais direcionado para a qualidade e higiene de estabelecimentos alimentícios (restaurantes, *shoppings*, supermercados, mercadinhos, etc), estabelecimentos de saúde como farmácias, clínicas, hospitais, e de locais que ofereçam serviços à população que possuem o risco nocivo ao meio ambiente ou ao humano, como por exemplo, as dedetizadoras. Portanto, foi acompanhado a fiscalização também dos produtos oferecidos nestes locais quanto à data de vencimento, armazenamento adequado, entre outros detalhes. A vigilância classifica os estabelecimentos entre: Baixo risco (salão de beleza, bomboniere, supermercados), Médio (farmácias) e Alto risco (controladoras de pragas, hospitais e clínicas médicas) à saúde humana. E de acordo com a classificação estes lugares necessitam de licenças, alvarás de funcionamento, entre outras medidas e pré-requerimentos legais que dependem do aval da vigilância na fiscalização.

2.2 Vigilância da Qualidade da Água (VIGIÁGUA)

Na vigilância ambiental foi acompanhado a inspeção de água no programa Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano (VIGIÁGUA), que trabalha pela fiscalização de água de canais, de rios para saber se há algum patógeno circulando na área como no caso da bactéria *Vibrio cholerae*, responsável por causar cólera (Figura 10). Também há a vigilância de água encanada nas escolas da rede pública ou particular, ou até mesmo água de poços artesanais e encanamento em residências. São separadas amostras, devidamente identificadas, que são encaminhadas para o LACEN para análise da presença de microorganismos patogênicos, e para uma análise organoléptica e analítica da água. No caso de águas encanadas

ou de poços artesianos, a checagem do nível de cloro é realizada durante a visita do ASACE no local (Figura 11) As amostras coletadas são cadastradas no SISÁGUA, sistema que ajuda a manter dados atualizados para que sejam planejadas e tomadas ações assertivas e em tempo oportuno. (BRASIL, 2022)

Figura 10 - (A) Preparação da “mecha” para captura de amostra de água do Córrego na Encruzilhada (B) e (C).



Fonte: Almeida, 2021

Figura 11 - (A) Ficha de preenchimento sobre a coleta da água com endereço, hora e data da coleta, medição de cloro no momento; (B) Coleta de água encanada pela ASACE na área externa de um condomínio residencial; (C) Coleta de água em poço artesanal de escola pública para envio ao LACEN; (D) Máquina específica medidor de cloro.



Fonte: Almeida, 2021

2.3 Campanha de Vacinação Antirrábica

Participação na Campanha antirrábica de 2021 no Distrito II , no Centro de Saúde Dr. Luiz Wilson no dia D da campanha (dia pré-determinado para que se realize a vacinação em todos os distritos de Pernambuco ao mesmo tempo, com ampla divulgação para a população), que ocorreu em 25 de outubro de 2021 (Figura 12). Também houve a participação em três dias em locais diferentes de pré-campanha em outubro de 2021, em que foi ofertada a vacinação antirrábica antes do dia D.

Além da ajuda na aplicação de vacinas antirrábicas, preenchimento de carteirinhas e de ficha de acidentes durante a vacinação e do relatório para prefeitura de quantos foram vacinados no dia. Também foi possível acompanhar e editar relatórios dos dados de quantos animais foram vacinados nos anos anteriores e em quais microrregiões e bairros dentro do Distrito II para ajudar na organização para a campanha de 2021.

Participação em duas pré-campanhas anti-rábicas em 2022, uma realizada pelo Distrito I (DS I), como visto na Figura 12. E a outra pela SEDA em parceria com o LAVIAN, tendo um posto fixo no HOVET da UFRPE.

Figura 12 - (A) Campanha de Vacinação no DS II; (B) Campanha de vacinação no DS I.



Fonte: Almeida, 2021/2022

2.4 Ações de enfrentamento à pandemia de COVID-19

Os residentes de vários distritos sanitários foram acionados para ajudar a organizar junto aos seus distritos postos de testagem de *Covid 19* itinerantes. O distrito sanitário II, sede na encruzilhada, organizou alguns dias de testagem no Alto Santa Terezinha (Compaz Eduardo Campos) e também no Centro Comunitário (Associação dos Moradores) de Dois Unidos.

Os residentes designados para ajudar nos locais ficavam preenchendo a ficha de recepção das pessoas que iriam testar, devidamente protegidos seguindo os protocolos de segurança, e ajudaram também no preenchimento do aplicativo e-SUS notifica para cadastrar as fichas das pessoas testadas no dia, junto a todas as informações necessárias e os resultados

de seus testes para alimentar a plataforma, e ajudar na percepção real dos números de casos de *Covid 19* (Figura 13).

Figura 13 - Residentes ajudando na organização de posto itinerante na Associação de Moradores de Dois Unidos.



Fonte: Almeida, 2021

2.5 Envio de amostras e distribuição de materiais

Ao receber amostras no nível central administrativo do distrito II, as mesmas eram direcionadas pelos próprios ASACES aos laboratórios de testagem. Ao LACEN, localizado no Distrito I, foram encaminhadas as amostras de água, de “mechas/armadilhas” de lagos e córregos (para pesquisa de *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae*). Ou as amostras eram encaminhadas ao GVACZ (Gerência de Vigilância Ambiental e Controle de Zoonoses) localizado no Distrito II, no caso: as ovitrampas de mosquitos da dengue para identificação e estadiamento das larvas levadas em tubos com álcool (Figura 14).

Os ASACES localizados no nível administrativo central também eram responsáveis pela distribuição de materiais requeridos pelas unidades básicas de saúde ou para onde mais fosse necessário em cada bairro sob jurisdição do distrito II.

Figura 14 - (A) Larvas de *Aedes aegypti* em tubo com álcool; (B) ASACE realizando captura com ovitampa em residência parceira; (C) e (D) Ovitampas com larvas de mosquitos presas reunidas de todo DS II entregues ao GVACZ.



Fonte: Almeida, 2021

3. NASF (Núcleo de Apoio à Saúde da Família)

Acompanhamento das Unidades de Saúde Básica (UBS) do Distrito II localizadas na Bomba do Hemetério; Alto do Pascoal; Água Fria; Santa Terezinha; Alto do Céu e Porto da Madeira e parte da Mangabeira. As atividades foram mais centralizadas onde a Equipe do NASF - AB 2.2 passava mais tempo na Upinha 24 horas Eduardo Campos, onde eram realizadas reuniões, acompanhamento psicológico e clínico de alguns pacientes. O DS II possui ao todo três equipes NASF-AB, e todas elas têm os profissionais: Assistente social; fisioterapeuta; fonoaudiólogo; profissional com formação em arte e educação (arte educador); nutricionista; psicólogo; terapeuta ocupacional e médico. Foram realizadas visitas a domicílios a pacientes acamados ou com dificuldade de locomoção que solicitavam aos ACS (Agente Comunitário de Saúde) o agendamento (Figura 15).

Figura 15 - Visita a paciente idoso doente incapacitado de ir à unidade de saúde.



Fonte: Almeida, 2021

**CAPÍTULO III: CULTIVO E LINHAGENS CELULARES
APLICADAS NA BIOTECNOLOGIA E NO DIAGNÓSTICO
VIROLÓGICO DA MEDICINA VETERINÁRIA: REVISÃO DE
LITERATURA**

Cultivo e Linhagens Celulares Aplicadas na Biotecnologia e no Diagnóstico Viroológico da Medicina Veterinária: Revisão de Literatura

Resumo

Objetiva-se com esta revisão de literatura discorrer sobre cultivo e linhagens celulares aplicadas na biotecnologia e no diagnóstico virológico aplicado à Medicina Veterinária, servindo como um material educativo que possa auxiliar estudantes e pesquisadores que trabalham com práticas laboratoriais em cultivo celular. A técnica de cultivo celular possui relevância na promoção de avanços na saúde humana e animal, principalmente devido ao crescimento da ciência, inovação industrial e tecnologia mundial na atualidade, aprimorando o diagnóstico de doenças, formulação e testes de medicamentos, avanço das técnicas de reprodução e outras utilidades que auxiliam no controle e prevenção de doenças infectocontagiosas. As células para se desenvolverem adequadamente em meio artificial precisam estar sob condições físico-químicas específicas e meios de cultura ideais, aliados a escolha das células utilizadas para cada diagnóstico dependendo da predileção do patógeno estudado. No campo da Medicina Veterinária a técnica de cultivo celular é utilizada para diversos estudos, principalmente para o Vírus da Parvovirose Canina, Vírus do Ectima Contagioso, *Circovírus*, Lentivírus e Diarreia Viral Bovina e, mesmo sendo primordial para estudos diagnósticos e principalmente para o aprimoramento de medidas de controle e prevenção efetivos. O conhecimento sobre os diferentes tipos de linhagens celulares utilizados para o isolamento dos vírus que acometem animais domésticos, de produção e silvestres é imprescindível para todos os profissionais que atuam no desenvolvimento de métodos de diagnóstico, produção de vacinas e biotecnologia.

Palavras-chaves: Cultivo celular, Virologia veterinária, Técnica padrão-ouro, Produção de vacinas.

Abstract

The objective of this literature review is to discuss cell culture and cell lines applied in biotechnology and virological diagnosis applied to Veterinary Medicine, serving as educational material that can help students and researchers who work with laboratory practices in cell culture. The cell culture technique has relevance in promoting advances in human and animal

health, mainly due to the growth of science, industrial innovation and world technology today, improving the diagnosis of diseases, formulation and testing of medicines, advancement of reproduction techniques and other utilities that help in the control and prevention of infectious diseases. The cells to develop properly in artificial media need to be under specific physicochemical conditions and ideal culture media coupled with the choice of cells used for each diagnosis depending on the predilection of the pathogen studied. In the field of Veterinary Medicine the cell culture technique is used for several studies, mainly for Canine Parvovirus, Contagious Ecthyma Virus, Circovirus, Lentivirus and Bovine Viral Diarrhea, and even being primordial for diagnostic studies and mainly for the improvement of effective control and prevention measures. Knowledge about the different types of cell lineages used for the isolation of viruses that affect domestic, farm and wild animals is essential for all professionals working in the development of diagnostic methods, vaccine production and biotechnology.

Keywords: Cell culture, Veterinary virology, Gold standard technique, Vaccine production.

1. INTRODUÇÃO

A técnica de cultivo celular ao longo dos anos se tornou relevante e presente no dia a dia, mediante ao crescimento da ciência, inovação industrial e tecnologias biológicas do mundo. O cultivo celular está relacionado a avanços nas inovações do mercado de saúde como diagnóstico de doenças, formulação e testes de medicamentos, avanço das técnicas de reprodução e outras utilidades que auxiliam no controle e prevenção de doenças infecciosas (BARBOSA et al., 2015).

O cultivo de células consiste na manutenção de células de tecidos animais *in vitro* em um meio de cultura balanceado que conserve o máximo das características da célula como citado por Castilho et al. (2008) e Waeny (2016). O sucesso do cultivo depende do meio de cultura, e historicamente o primeiro meio de cultura surgiu antes mesmo do desenvolvimento da técnica de cultivo, no início do século XX por volta de 1882 quando Sydney Ringer criou uma solução salina que tinha uma composição próxima ao dos fluidos corporais, chamada assim de Solução de Ringer. O pesquisador Ringer testou essa mimetização dos fluidos ao retirar o coração de sapos e fazê-los continuar batendo após ressecção e remoção dos corpos dos animais, esse foi o início do cultivo celular *in vitro* a partir de células animais (GORDON e SPIEGEL, 2020).

Posteriormente, houve o surgimento de outras soluções salinas, a exemplos da solução de Hanks, solução de Locke 's. Todas estas soluções eram balanceadas com glucose, nutrientes,

pH, porém tinham suas limitações em manter as células dos tecidos dos animais vivos por mais do que algumas horas, raramente com mitoses, portanto por anos não se teve experimentos com sucesso notório, até que em 1907, surge então um experimento realizado por Harrison, no qual conseguia manter com sucesso fluído linfático e fibras neurais de sapos por semanas, com crescimento aparente de células (YAO e ASAYAMA 2017).

Em 1912, o cientista francês Alexis Carrel, fez um experimento com células embrionárias de galinhas fazendo-as durar um longo prazo a partir da troca frequente do meio contendo plasma de sangue ao invés de fluído linfático, sendo futuramente creditado como cientista de grande contribuição na criação de frascos de cultura celular para um método asséptico; frascos e método utilizados até os dias atuais (CARREL, 1923; AMBROSE, 2019).

Durante os anos seguintes, diferentes meios de cultura foram desenvolvidos com outros testes e tecnologias para o refinamento da técnica celular. O período de maior avanço científico nesta área foi entre os anos de 1940-1960, inclusive com a produção de vacinas contra poliomielite (THORPE, 2007; VERMA et al., 2020).

Em 1951 foram desenvolvidas as células HeLa a partir de tecido tumoral por George Gey, e em 1962 as células VERO provenientes de rim do macaco-verde africano, as duas são amplamente utilizadas, e são apenas exemplos dentre tantas outras linhagens celulares desenvolvidas a partir de células de mamíferos. Entre seus múltiplos usos já citados, na virologia e biologia molecular uma das maiores funções do cultivo celular é a produção de vírus para vacinas, produção de hormônios e cultivo de células-tronco (ALVES e GUIMARÃES, 2010).

Diante do crescimento da ciência, inovação industrial e tecnologia, em especial para a técnica de cultivo celular, objetiva-se com esta revisão de literatura possibilitar conhecimento sobre cultivo e linhagens celulares aplicadas na biotecnologia e no diagnóstico virológico aplicado à Medicina Veterinária, desde a descoberta até os avanços mais recentes nas pesquisas, promovendo um material que possa auxiliar pesquisadores que trabalham com práticas laboratoriais em cultivo celular.

2. CULTIVO CELULAR

O cultivo celular primário para ser desenvolvido precisa ser realizado a partir do isolamento de órgãos frescos de embriões; partes de órgãos ou ainda a partir de células primárias de tecidos de animais. E pode ainda ser classificado em cultivo celular em monocamadas ou cultura de células em suspensão (VERMA et al., 2020).

As células para se desenvolverem em meio artificial adequadamente precisam estar sob

condições físico-químicas em harmonia, como por exemplo: regulação de pH, temperatura, pressão osmótica. Além de serem nutridas com aminoácidos, suplementos, hormônios, fornecimento de gases (CO₂ e O₂).

A cultura celular realizada a partir de órgãos (primária) não perdura por longos períodos, já que as células extraídas os órgãos *in vivo* funcionam de uma forma e *in vitro* se comportam de outra (ANTONI et al., 2015); visto que se trata de um meio produzido sinteticamente, além de outros fatores que só um ser vivo pode oferecer como exemplo: interação entre órgãos, ligações nervosas. As células primárias possuem replicação mais lenta, mesmo assim, são utilizadas de forma rotineira para avaliar propriedades de células e para examinar a ação de agentes externos como drogas e seu metabolismo, por exemplo avaliar a citotoxicidade nas células (GONÇALVES e SOBRAL, 2020).

Células primárias que são obtidas a partir de tecidos de órgãos através de desagregação mecânica, enzimática ou ainda química são estimuladas a crescer em recipiente de vidro ou plásticos adequados. Ao serem suplementadas com meio de cultivo, geralmente são heterogêneas, apresentam baixa taxa de crescimento e possuem a vida limitada, mas são bastante utilizadas pela proximidade da reprodução da atividade celular *in vitro*. A estrutura morfológica dos tipos celulares mais utilizados são: epiteliais; epitelióides; tipo conjuntivo ou ainda tipo fibroblastos (FRESHNEY, 2010).

Como as células primárias possuem característica finita, os pesquisadores desenvolveram ao longo dos anos as linhagens celulares que teriam um caráter de proliferação ilimitada. Desta forma foram produzidas linhagem de células contínua e a chamada linhagem de células transformadas. Já as células secundárias são subculturas comumente vistas nas passagens celulares (FRESHNEY, 2010).

Com os avanços tecnológicos na área da biotecnologia, o cultivo celular 3D foi introduzido, sendo amplamente utilizado por permitir que as células interajam em todas as suas dimensões simulando um ambiente *in vivo*, permitindo assim maior viabilidade, diferenciação e crescimento celular, comparado aos modelos em 2D (ANTONI et al., 2015; PAMIES e HARTUNG, 2017).

Outro fator importante para manutenção do cultivo celular, e que foi um marco de diferença junto com o uso do método asséptico é o uso de antibiótico e fungicida nos meios para impedir o crescimento de bactérias, micoplasmas e fungos, mas há alguns microrganismos que já são resistentes ao antibióticos mais utilizados que são a penicilina e a estreptomicina, além da anfotericina para fungos (ALVES e GUIMARÃES, 2010; RYU et al., 2017). Há também efeitos colaterais, como citados por Ryu et al. (2017) na diferenciação celular que pode estar

associado ao uso de antibióticos nos meios.

Soro Fetal Bovino

O meio de cultura além de requerer fatores importantes como aminoácidos e outros nutrientes para o crescimento e metabolismo celular, precisa também de um elemento imprescindível que é o suplemento de soro de fonte animal. O mais utilizado é o Soro Fetal Bovino (SFB), existem outros tipos de soro também, mas o mais completo é SFB que tem muitos componentes, dentre eles: proteínas, aminoácidos, lipídeos, hormônios, entre outros fatores necessários para manutenção, adesão, fixação e proliferação celular. Uma das desvantagens do uso deste soro é a questão ética e do bem estar animal já que se utiliza o feto vivo para extração do soro. (GSTRANTHALER et al., 2013; NASCIMENTO, 2016)

Lembrando que há técnicas e também a depender do tipo celular em questão que exigem pouco uso de soro fetal bovino, ou ainda, pouco soro sintético com proteína animal. (LEMME, 2016).

Tipos de linhagem celular

As células de linhagem contínua preservam algumas características do tecido de origem, são portanto homogêneas e bastante proliferativas “imortais”. Como exemplo, pode-se citar células de adenocarcinoma cervical humano, HeLa citadas anteriormente como a primeira linhagem de sucesso da história e muito utilizada atualmente, como por exemplo, em atividades anti-tumorais (BARBOSA et al., 2015).

Já as células transformadas são aquelas com padrões tumorais, que apresentam mudanças que diferem morfológicamente de características do tecido original e geneticamente causando assim sua propagação descontrolada. Um exemplo de células da linhagem seria a HEK293, células de rim humano modificadas pelo adenovírus humano tipo 5 (Ad5), utilizadas na testagem de proteínas recombinantes (GONÇALVES e SOBRAL, 2020).

Linhagens aderentes x linhagens em suspensão

As células epiteliais provenientes de tecidos sólidos geralmente crescem em monocamadas de células aderentes, pois dependem disso para se proliferarem no fundo do recipiente (NEMA e KHARE, 2012). Já as células que formam as linhagens de suspensão não necessitam da ancoragem ou interação para proliferarem, um exemplo de células desta linhagem são as hematopoiéticas (NEMA e KHARE, 2012).

Tipos de células utilizadas nas linhagens

As células utilizadas em cada estudo ou pesquisa são selecionadas de acordo com as suas particularidades que cada uma expressa (citogenética), seja de excretar tal substância ou de ter afinidade com o patógeno que irão inocular nos cultivos celulares (susceptibilidade viral), ou ainda de acordo com o crescimento celular. Tudo isso deve ser levado em consideração antes do cultivo celular (SEGERITZ et al., 2017) (**Tabela 01**).

As vantagens e desvantagens das células estão relacionadas ao fato de serem aderentes ou não, células primárias ou de linhagem secundária contínua ou transformada. As células primárias aderentes são mais limitadas e sensíveis ao estresse causado ao meio, além de serem mais trabalhosas de se obter (MERTEN, 2015). Já as células de linhagem são mais duradouras, resistentes e ilimitadas (MERTEN, 2015).

Cultivo celular aplicado à Virologia Veterinária

Ao longo dos anos o cultivo celular tem sido bastante utilizado para o diagnóstico viral de algumas enfermidades na medicina veterinária, como por exemplo, para identificar o vírus da raiva em bovinos e caninos, o vírus da parvovirose canina, *Orf* (vírus do Ectima contagioso), *Circovírus* em suínos, purificação de lentivírus, para identificação de BVDV (Diarreia Viral Bovina) além de vírus respiratório que acometem a espécie bovina (ANGELO et al., 1988; HU et al., 2019; LOHERT et al., 2020; MOREIRA, 2021; RICHER, et al., 1988; SANTANA, 2021; TAMURA, 2017). Além da identificação de patógenos, a técnica de cultivo celular que é padrão ouro para identificar a maioria dos vírus, uma vez que alguns não se desenvolvem bem no cultivo, como alguns vírus intestinais, também é utilizada para a produção de vacinas (KENNEDY, 2005).

A escolha das células utilizadas para cada diagnóstico depende do órgão-alvo em que o patógeno se aloja, pois a pretensão é mimetizar este ambiente para que o vírus produza seu efeito citopático característico, ou chegar o mais próximo possível (com alta sensibilidade e especificidade). No caso da Raiva, o vírus tem tropismo principalmente por tecidos neurais e também se dissemina em outros órgãos por isto as células de escolha são a N2A (neuroblastoma murino) e BHK-21 (rim de hamster) (KANITZ et al., 2015).

Quanto ao *Parvovírus* canino, as células escolhidas são as MDCK, que também podem ser usadas no diagnóstico de doenças respiratórias como *Influenza A* e *B* em cães (KAUR et al., 2015).

No caso do *Circovírus* Suíno (PCV2) e da Peste Suína Clássica (PSC) a célula de seleção é a PK15 (HU et al., 2019). Para o lentivírus de pequenos ruminantes destaca-se o uso de córneas fetal caprina (CorFC) para alcançar a produção de antígenos (OLIVEIRA et al.,

2008) e para identificação do ORF vírus (SANTANA, 2021). Já a MDBK, o último tipo celular é usada no diagnóstico de Herpesvírus bovino tipo 1 (ZHU et al., 2016) ou ainda para o isolamento de BVDV (QUEIRÓZ, 2017; WOA, 2018).

Cultivo celular: manutenção das linhas celulares

Passagem celular é um subcultivo utilizado quando as células atingem uma alta confluência em torno de 80% nos frascos em que se encontram e para que se tenha uma quantidade maior das células já existentes. Por isso, são realizadas passagens em diferentes frascos para manutenção das células para sua futura inoculação viral ou qualquer outro propósito que venha a ser utilizado (SEGERITZ et al., 2017).

As trocas de meios devem ser realizadas quando as células atingem o nível máximo de confluência no recipiente em que estão, ou a depender de tipo celular como no caso de algumas células em suspensão antes mesmo disto, impedindo que elas realizem apoptose uma vez que não há mais espaço para crescimento, ou quando há escassez de meio para supri-lás. Desta forma, ao se realizar passagens consequentes, as células vivem longos períodos e se multiplicam em populações diferentes (GONÇALVES e SOBRAL, 2020; VERMA et al., 2020).

O crescimento celular pode ser dividido em quatro fases: fase Lag ou de adaptação; fase Log ou exponencial, onde as células crescem rapidamente; fase estacionária; e a fase de declínio celular, onde as células começam a realizar apoptose, com morte celular predominante. Alguns fatores como a expressão proteica, disponibilidade de nutrientes e substratos e morfologia podem interferir durante as fases de crescimento (VERMA et al., 2020).

Para que ocorra a conservação e preservação da homeostase celular por anos, realiza-se a técnica criopreservação. Criopreservação é a técnica que permite congelar uma fração de uma linhagem celular que pode ser mantida por até três décadas, para que seja utilizada no futuro. A técnica empregada é o congelamento lento em temperaturas de -196°C no nitrogênio líquido. O congelamento é realizado de forma lenta para que a integridade celular não seja prejudicada, e portanto, não interfira na viabilidade das células (ALVES e GUIMARÃES, 2010).

Viabilidade celular

Corantes como o Azul de Tripiano conseguem mostrar a viabilidade celular realçando quantas células estão vivas, e quais tiveram perda na integridade de suas membranas celulares. É muito importante avaliar a viabilidade celular, pois ela determina se a execução da técnica

foi de êxito, obtendo células saudáveis, que apesar de sofrerem com a citotoxicidade devido aos produtos químicos usados durante o cultivo, obtiveram sucesso em sua mitose (replicação celular) (VERMA et al., 2020).

Manejo do ambiente laboratorial

Entre outros fatores que interferem no sucesso de um cultivo celular, um deles é o ambiente externo. Por isso, os laboratórios que realizam este tipo de técnica devem ser devidamente limpos regularmente e organizados. Produtos utilizados de forma mais rotineira como adjuvantes da limpeza são o hipoclorito e o álcool a 70% por serem excelentes na eliminação de microrganismos. O material de limpeza deve ser exclusivo para a área de cultivo (GONÇALVES e SOBRAL, 2020).

Além do ambiente, as máquinas que entram em contato com as garrafas de cultura, meios, e outros materiais como o fluxo laminar, a incubadora de CO₂ devem ser devidamente limpos e checados regularmente quanto à sua esterilização. o que precisar ir à estufa de autoclave, precisa seguir as normas de segurança e limpeza também (GONÇALVES e SOBRAL, 2020).

O controle de microrganismos deve ser feito para evitar contaminações nas culturas, e segundo Gonçalves e Sobral (2020) isso é feito através de culturas para fungos e bactérias no ambiente e nas máquinas previamente aos cultivos e durante os mesmos para que se mantenha um padrão de fiscalização, biossegurança e qualidade do trabalho feito. Uma das contaminações mais comuns de microrganismos mais complexos (vírus também são complexos) é a de Micoplasmas, que são bactérias que não possuem parede celular, muito pequenas e difíceis de detectar além de algumas poder causar alterações às células sem causar a apoptose celular (DREXLER e UPHOFF, 2002).

pH, Temperatura e CO₂ no cultivo

O pH pode ser regulado através da adição de soluções com substâncias alcalinas ou ácidas. Alguns meios já vêm com reguladores de pH. A adição do gás CO₂ é realizada nos biorreatores ou estufas/incubadoras de CO₂ (SEGERITZ et al., 2017).

A temperatura deve ser controlada através de incubadoras termostáticas ou até mesmo o uso de biorreatores no caso de células mais sensíveis, pois tem um controle de temperatura mais rigoroso. Lembrando, que cada linhagem celular tem seu protocolo adequado (VERMA et al., 2020).

CONCLUSÃO

O cultivo de células é um importante recurso de diagnóstico de doenças, de criação de produtos atuais no mercado da medicina, e também de rastreamento de patógenos. As células envolvidas na técnica possuem particularidades, afinidades por patógenos, vantagens e desvantagens para se trabalhar com as mesmas. Além da manutenção delas que deve ser altamente controlada e padronizada, mesmo assim, o conhecimento da técnica é inevitável e imprescindível, portanto será cada vez mais visto e aplicado no futuro.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quanto ao programa de residência vale ressaltar a sua importância para construção de uma carreira profissional mais sólida, direcionado a uma especialidade, e de onde nascem muitos frutos profissionais e pessoais.

A técnica de cultivo celular e as diferentes linhagens celulares são de extrema importância para a Biotecnologia na área de saúde humana e na medicina veterinária. O seu aprimoramento ao longo dos anos proporcionou para a biologia molecular e para virologia diagnósticos mais precisos e produtos mais eficientes.

O sucesso da técnica de cultivo depende de muitos fatores internos e externos, desde a prática asséptica da execução, como temperatura, pH, controle de microrganismos no ambiente, até a utilização de linhagens corretas de acordo com o objetivo que pretende-se alcançar. O cultivo pode necessitar de baixa quantidade de soro fetal ou não, mas sempre requer suplementos e cuidados diários de acompanhamento destas células.

5. REFERÊNCIAS

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R.R. (Org.). **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**; In: ALVES, E.A.; GUIMARÃES, A.C.R. **Capítulo 5: Cultivo Celular**, . Rio de Janeiro: EPSJV v.2 p. 215-236.. 2010.

AMBROSE, C. T. **An amended history of tissue culture: Concerning Harrison, Burrows, Mall, and Carrel**. *Journal of Medical Biography*. 27:2, 95-102. 2017.

ANGELO M. J. de O., HAGIWARA M. K., CARVALHO, R. P. de S., & BACCARO, M. R. **Isolamento de parvovirus canino no Brasil**. *Revista Da Faculdade De Medicina Veterinária E Zootecnia Da Universidade De São Paulo*, 25(1), 123-134. 1988. Disponível em:

<<https://doi.org/10.11606/issn.2318-3659.v25i1p123-134>>. Acesso em: 16/11/2022.

ANTONI, D.; BURCKEL, H.; JOSSET, E.; NOEL, G. **Three-Dimensional Cell Culture: A Breakthrough in Vivo**. *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 5517-5527. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms16035517>>. Acesso em: 16/11/2022.

BRASIL. **Ministério da Saúde - Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano. SISAGUA**, 2022. Disponível em: <<http://sisagua.saude.gov.br/sisagua/paginaExterna.jsf>>. Acesso em: 16/11/2022.

CARREL, A. **A Method for the Physiological Study of Tissues *in vitro***. *J Exp Med.* 38(4):407-18. 1923, Sep 30. doi: 10.1084/jem.38.4.407. PMID: 19868798. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2128453/>> Acesso em: 16/11/2022.

CASTILHO, L.; MORAES, A.; AUGUSTO, E.; BUTLER, M. **Animal cell technology: from biopharmaceuticals to gene therapy**. First ed. New York: Taylor & Francis Group, 2008.

DA MATTA, E. C. **Diagnóstico da peritonite infecciosa felina em gatos na cidade de São Paulo, SP, Brasil**. Repositório digital UNIP. 2018.

DE SOUSA BARBOSA, B.; DOS SANTOS, F. A.; PIMENTEL, M. M. L.; FERNANDES, D. P. et al. **Histórico do desenvolvimento do cultivo de células animais. Uma Revisão**. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 9, n. 2, p. 334-347, 2015.

DILNESSA, T.; ZELEKE, H. **Cell culture, cytopathic effect and immunofluorescence diagnosis of viral infection**. *J. Microbiol. Mod. Tech*, 2, p. 1-8, 2017.

DREXLER, H. G.; UPHOFF, C. C. **Mycoplasma contamination of cell cultures: Incidence, sources, effects, detection, elimination, prevention**. *Cytotechnology*, Netherlands, v. 39, n. 2, p. 75-90, ago. 2002. Springer Science and Business Media LLC. doi: 10.1023/A:1022913015916.

FISCHER, Y.; SAUTER-LOUIS, C., & HARTMANN, K. **Diagnostic accuracy of the Rivalta test for feline infectious peritonitis**. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(4), 558-67, 2012.

FLORES, E. F.(Org.). **Virologia veterinária. Santa Maria, RS: UFSM.** 888 p. 2007. ISBN 9788573910957.

FRESHNEY, R.I. **Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications.** 6th Edition, John Wiley & Sons Ltd., Hoboken. 2010. Disponível em < <https://doi.org/10.1002/9780470649367> > Acesso em: 16/11/2022.

GONÇALVES, J.C. R.; SOBRAL, M. V. **Cultivo de células: da teoria à bancada .** João Pessoa. Editora UFPB.166 p. 2020. Recurso digital (5,88 MB). Formato PDF. ISBN: 978-65-5942-027-8.

GORDON, D.; SPIEGEL, R. **Fluid Resuscitation: History, Physiology, and Modern Fluid Resuscitation Strategies. Emergency Medicine Clinics of North America,** vol. 38, p. 4. Pag. 783-793. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.emc.2020.06.004>>. Acesso em: 02/02/2023.

GSTRAUNTHALER G.; LINDL T.; VAN DER, V. **A plea to reduce or replace fetal bovine serum in cell culture media. Cytotechnology.** 2013 Oct;65(5):791-3. doi: 10.1007/s10616-013-9633-8. Epub 2013 Aug 22. PMID: 23975256. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3967615/> >.

HU, Y; CAI, X; ZHAN, Y; YUAN,X; LIU, T; TAN, L; LI, Y; ZHANG, L; YANG, L,et al. **Truncated Rep protein of porcine circovirus 2 (PCV2) caused by a naturally occurring mutation reduced virus replication in PK15 cells. BMC Vet Res.** 2019 Jul 15;15(1):248. PMID: 31307486; PMCID: PMC6632220. Disponível em < doi: 10.1186/s12917-019-1984-8> Acesso em: 16/11/2022.

KANITZ, F. A. et al. **Virus isolation in cell culture for confirmatory diagnostic of rabies in bovine specimens. Ciência Rural** [online]. 2015, v. 45, n. 12 [Accessed 10 January 2023], pp. 2193-2196. Available from: <<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141690>>. Epub Dec 2015. ISSN 1678-4596. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141690>>. Acesso em: 16/11/2022.

KAUR, G.; CHANDRA, M.; DWIVEDI, P.N.; SHARMA, N.S. **Isolation of Canine parvovirus with a view to identify the prevalent serotype on the basis of partial sequence analysis.** *Vet World*. 2015 Jan;8(1):52-6. Epub 2015 Jan 13. PMID: 27046996; PMCID: PMC4777811. Disponível em: < doi: 10.14202/vetworld.2015.52-56.>. Acesso em: 20/12/2022.

KEEHAN, WM; BARNES D; REID L; STANBRIDGE E; MURAKAMI, H; SATO, G. **Frontiers in mammalian cells culture. In Vitro Cell Dev Biol.**26:9–23. 1990. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2407711/>> . Acesso em: 20/12/2022.

KENNEDY, M.. **Methodology in diagnostic virology. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Volume 8, Issue 1. 2005. Pages 7-26,ISSN 1094-9194 <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2004.09.009>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1094919404000702>>. Acesso em: 20/12/2022.

LANAVE, G., LAROCCA, V., LOSURDO, M. *et al.* **Isolation and characterization of bovine alphaherpesvirus 2 strain from an outbreak of bovine herpetic mammillitis in a dairy farm.** *BMC Vet Res* 16, 103. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12917-020-02325-3>> Acesso em: 20/12/2022.

LEME, Jaci. **Cultivo de célula BHK-21 C13 em meio de cultura livre de soro fetal bovino adaptada para crescimento em suspensão.** 2016. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Fermentações) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, University of São Paulo, São Paulo, 2016. doi:10.11606/D.9.2017.tde-20022017-105416. Acesso em: 2023-03-15.

LOHERT K; PAGALLIES, F; FEGER, T; AMANN, R; WOLFF, MW. **Selection of chromatographic methods for the purification of cell culture-derived Orf virus for its application as a vaccine or viral vector.** *J Biotechnol*. 2020 Nov 10;323:62-72. doi: 10.1016/j.jbiotec.2020.07.023. Epub 2020 Aug 5. PMID: 32763261; PMCID: PMC7403136.

MERTEN, O-W. **Advances in cell culture: anchorage dependence. Phil. Trans. R. Soc. B** .370: 20140040. 2015. Disponível em: <DOI: <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2014.0040>>. Acesso em: 15/01/2023.

MIDHUN, N.; SONIA BAI, J. K.; CHAKRAPANI, K. V.; HARIPRIYA, G.; PATHURI, C. K. V. S.; RAMALAKSHMI, N. S.; **Enzyme linked immunosorbant assay - lab diagnosis: A review. Indian J Microbiol Res**, 2021; 8(1): p. 10-14.

MOREIRA, A.S., CAVACO, D.G., FARIA, T.Q., ALVES, P.M., CARRONDO, M.J.T. and PEIXOTO, C. **Advances in Lentivirus Purification. Biotechnol. J.**, 16: 2000019. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/biot.202000019>>. Acesso em: 15/01/2023.

NASCIMENTO, Sérgio Alves do. **Produção de antígenos para diagnóstico da artrite encefalite caprina empregando cultivo de células CorFC com baixo teor de soro fetal bovino**. 2016. 73 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. Disponível em: <<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/7163> >

NEMA, Rajeev ; KHARE, Sarita. **An animal cell culture: Advance technology for modern research. Advances in Bioscience and Biotechnology**, 2012, 3, 219-226 ABB . Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4236/abb.2012.33030>>. Acesso em: 15/01/2023. Published Online June 2012 (<http://www.SciRP.org/journal/abb/>)

NETO, Antonio Marcelino de Freitas; ALVES, Eduarda da Silva; SOARES, Tamyrys Leitão, FERREIRA, Emerson de Oliveira. **Ensaio de Imunoabsorção Enzimática: Princípio, importância e métodos**. 2018. Publicado na **Amostra científica de Biomedicina**. Formato PDF. ISSN: 2526-5237.

OLIVEIRA, E.H., & PEREIRA, T.C. **A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Genética na Escola**. 2019.

OLIVEIRA, M.M.M.; MELO, M.A. de; ANDRADE, P.P. de; GOMES, S.M.; et al. **Western Blot para o diagnóstico das infecções pelos Lentivírus de Pequenos Ruminantes em Caprinos: Um método simples para a produção de antígeno**. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.75, n. 3, p.263-2701. 2008.

PAMIES D; HARTUNG, T. **21st Century Cell Culture for 21st Century Toxicology. Chem Res Toxicol**. 2017 Jan 17;30(1):43-52. PMID: 28092941 Disponível em: <[doi: 10.1021/acs.chemrestox.6b00269](https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00269)>. Acesso em: 15/01/2023.

PEREIRA, R. L. G. **Comparação de técnicas de ensaio de absorção imunoenzimático (ELISA) para avaliação da reatividade de anticorpos anticocaína tipo IgG em camundongos. Repositório UFMG.** 2019.

QUEIRÓZ, R. K. R.de. **Perfil Proteômico após Infecção por BVDV (Vírus da Diarreia Viral Bovina) em Células MDBK.** São Paulo. 2017. 102 f. Tese (Doutorado em Sanidade, Segurança Alimentar no Agronegócio) - **Instituto Biológico.** Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2017.

RICHER, L; MAROIS, P; LAMONTAGNE, L. **Association of bovine viral diarrhoea virus with multiple viral infections in bovine respiratory disease outbreaks.** *Can Vet J.* 1988 Sep;29(9):713-7. PMID: 17423116; PMCID: PMC1680843.

RYU, A.H., ECKALBAR, W.L., KREIMER, A. et al. **Use antibiotics in cell culture with caution: genome-wide identification of antibiotic-induced changes in gene expression and regulation.** *Sci Rep* 7, 7533 (2017). Disponível em: < <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07757-w>>.

SANTOS, B. d. M. G. d. **Desenvolvimento de reação em cadeia da polimerase (PCR) multiplex em tempo real com curva de dissociação de alta resolução (HRM) para detecção simultânea e identificação de seis herpesvírus humanos.** 85 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

SANTANA, R. L. de. **Isolamento e avaliação do comportamento do vírus Orf em células de córnea fetal caprina e identificação pela Reação em Cadeia da Polimerase.** *Revista Agrária Acadêmica*, v. 4, n. 4, p. 107-115, 2021.

SBIZERA, M. C. R., CUNHA FILHO, L. F. C. da; LUNARDI, M.; PERTILE, S. F. N; PATELLI, T. H. C; BARRETO, J. V. P., & PITUCO, E. M. **Detecção de anticorpos para o vírus da língua azul em ovinos do estado do Paraná, Brasil.** *Semina: Ciências Agrárias.* Londrina, v. 41, n. 3; p. 879-866 maio/junho. 2020.

SEGERITZ C.P; VALLIER, L. **Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro.**

Basic Science Methods for Clinical Researchers. 2017:151–72. Disponível em: < doi: 10.1016/B978-0-12-803077-6.00009-6>. Epub 2017 Apr 7. PMID: PMC7149418.

SOARES, J. M.; CARMO, B. M. B.; JÚNIOR, W. G. A.; FRANCO, A. A.; SCHIMMUNECH, M. S., MOREIRA, R. M. P.; OLIVEIRA, P. G., & MOREIRA, C. N. **O uso de testes rápidos na rotina clínica veterinária / The use of quick tests in the veterinary clinical routine.** **Brazilian Journal of Development**, 6(7), 52328–52333. Disponível em: < <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-762>>. Acesso em: 15/01/2023. 2020.

TAMURA, H. C. F. **Diagnóstico da raiva: estudo comparativo entre a efetividade dos testes de cultivo celular e inoculação viral em camundongos.** 2017. 23 f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina Veterinária) - **Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filhos, Faculdade de Medicina Veterinária**, 2017. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/156712>>.

TEIXEIRA, L.S.A. et al. **Avaliação das técnicas de imunodifusão em gel de ágar, ensaio imunoenzimático indireto e reação em cadeia da polimerase no diagnóstico da brucelose ovina.** **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** [online]. 2018, v. 70, n. 03 [Acessado 10 Janeiro 2023], pp. 787-792. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-9948>>. ISSN 1678-4162.

THORPE, T.A. **History of Plant Tissue Culture.** **Molecular Biotechnology**, 37, 169-180.(2007).<https://doi.org/10.1007/s12033-007-0031> . Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/s12033-007-0031-3>>. Acesso em: 15/01/2023

VERMA, A.; SINGH, A. **Animal Biotechnology (Second Edition).** *In:* VERMA, A.; VERMA, M.; SINGH, A. **Chapter 14 - Animal tissue culture principles and applications**, pág. 269-293. 2020. ISBN 9780128117101, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811710-1.00012-4>. Disponível em: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128117101000124>). Acesso em: 15/01/2023

WAENY, P. de O. **Cultivo e isolamento de células destinadas a transferência nuclear em bovinos: revisão de literatura.** xiv, 35 f., il. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária)—Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

WOAH (World Organisation for Animal Health), 2018: **Terrestrial Manual. Infectious Bovine rhinotracheitis/ infectious pustular vulvovaginitis.** Chapter 3.4.11.

WOAH (World Organisation for Animal Health), 2018: **Terrestrial Manual. Bovine viral diarrhoea.** Chapter 3.4.7.

YAO, T; ASAYAMA, Y. **Animal-cell culture media: History, characteristics, and current, issues.** *Reprod Med Biol.* 16: 99– 117. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/rmb2.12024>>. Acesso em: 15/01/2023.

ZHU, L.; YUAN, C., HUANG, L. *et al.* **The activation of p38MAPK and JNK pathways in bovine herpesvirus 1 infected MDBK cells.** *Vet Res* 47, 91. 2016 Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13567-016-0377-2>>. Acesso em: 15/01/2023.

Tabela 1. Tabela apresentando os tipos de linhagens celulares, uso, origem, propriedades e organismo mais utilizadas na biotecnologia de cultivo celular.

Linhagem celular	Origem	Propriedades	Organismo	Uso convencional
H1, H9	Células-tronco embrionárias	Aderente	Humano	Medicina regenerativa
HEK-293	Rim embrionário transformado com adenovírus	Aderente/Suspensão	Humano	Investigação para adenovírus associado
HeLa	Células Epiteliais da cérvix (adenocarcinoma)	Aderente	Humano	Estudos de clonagem, quimioterapia, vacina contra Poliomielite
HL 60	Células de leucemia promielocítica humana	Suspensão	Humano	Formação e fisiologia de células sanguíneas
MCF-7	Câncer mamário	Aderente/Suspensão	Humano	Pesquisa câncer mamário
A549	Câncer de pulmão	Aderente	Humano	Estudos de drogas para o pulmão
CHO	Ovário	Aderente/Suspensão	Hamster Chinês	Proteínas terapêuticas; Replicação in vitro de vírus da raiva
Vero	Células epiteliais do rim	Aderente	Macaco Verde Africano	Produção de vacinas: antirrábica, sarampo, anticorpos monoclonais, identificação de vírus como Newcastle
Cos-7	Células de Rim de macaco, semelhantes a fibroblastos	Aderente	Macaco Verde Africano	Análise de genes esteroideogênicos
3T3	Fibroblasto	Aderente	Rato	Transfecção de DNA
BHK21	Fibroblasto	Aderente	Hamster Sírio	Veterinária: WOA diagnosticado viral produção vacina antirrábica
MDCK	Células Epiteliais	Aderente	Cachorro	Produção de vacinas veterinárias como a raiva; diagnóstico influenza A e B; identificação parvovírus
MDBK	Células de Rim do bovino-mandarim	Aderente	Bovino	Veterinária: WOA diagnosticado viral para várias patologias como BVDV, BoHV-1, produção vacina antirrábica
PK 15	Células de rim de Suíno	Aderente	Suíno	Veterinária: WOA diagnosticado viral como PSC, replicação de circovírus suíno
E14.1	Células-tronco embrionárias (rato)	Aderente	Rato	Estudos genômicos
COS	Rins	Aderente	Macaco	Estudo do Vírus do macaco 240; proteínas recombinantes
DT40	Célula de Linfoma	Suspensão	Galinha	Reparação do DNA; diversificação de imunoglobulinas
GH3	Tumor Hipofisário	Aderente/Suspensão	Rato	Estudos de tumores; Supressão hormonal
L6	Mioblasto	Aderente	Rato	Estudos com glicose
CorFC	Córnea Fetal	Aderente	Caprino	Veterinária: Produção de antígenos; ORF vírus

Fonte: Adaptação baseada em VERMA et al., 2020 ; BARBOSA, et al., 2015; ZHU et al., 2016 (MDBK) e HU et al., 2019 (PK15), OLIVEIRA, 2008 (CorFC); WOA, 2018.

APÊNDICE I

Artigo: Caracterização epidemiológica dos Lentivírus de pequenos ruminantes na região geográfica imediata de Monteiro, Paraíba, Nordeste, Brasil.

Research, Society and Development, v. 11, n. 14, e241111436258, 2022
(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36258>

Caracterização epidemiológica dos Lentivírus de pequenos ruminantes na região geográfica imediata de Monteiro, Paraíba, Nordeste, Brasil

Epidemiological characterization of Lentiviruses in small ruminants in the immediate geographic region of Monteiro, Paraíba, Northeast, Brazil

Caracterización epidemiológica de los lentivirus en pequeños rumiantes de la región geográfica inmediata de Monteiro, Paraíba, Nordeste, Brasil

Resubido: 07/09/2022 | Revisado: 19/10/2022 | Aceiteado: 20/10/2022 | Publicado: 07/11/2022

Renato Vaz Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1004-1816>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: renato.vaz@ufcg.edu.br

Andra de Souza Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-0062-6882>
Serviço Nacional de Aprendizagem Rural, Brasil
E-mail: andra.silva@snar.gov.br

Jonas Borges de Moura

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9929-9093>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: jonas.borges@ufcg.edu.br

Camila Almeida Azevedo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0749-5787>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: camila.azevedo@ufcg.edu.br

Nikolas Gabriel Costa Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-2460-7481>
Centro Universitário Domini Loda Sampaio, Brasil
E-mail: nikolasp@domini.edu.br

Sérgio Alves Nascimento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-0670-798X>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: sergio.alves@ufrpe.br

Davi dos Santos Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9497-0547>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: davidosantos@ufrpe.br

Bárbara Ferreira de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7483-6136>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: barbaraferreira@ufrpe.br

Roberto Soares de Castro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6754-1833>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: roberto@ufrpe.br

Severino Silvano dos Santos Higino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1784-7481>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: severino.silvano@professor.ufcg.edu.br

Resumo

As lentiviruses de pequenos ruminantes acometem caprinos e ovinos e possuem ampla distribuição geográfica, acarretando sérios prejuízos econômicos, principalmente na caprinocultura leiteira. O objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização epidemiológica dos lentivírus de pequenos ruminantes na Região Geográfica Imediata de Monteiro, Paraíba, Nordeste do Brasil. Foi realizada amostragem probabilística, estratificada, em dois estágios: no primeiro foram selecionadas aleatoriamente as propriedades rurais, e no segundo foram aleatoriamente selecionados os animais dentro das propriedades selecionadas. Foram aplicados questionários epidemiológicos com o objetivo de levantar informações acerca da ausência ou presença de algumas práticas e condições que atuam como possíveis fatores associados a ocorrência das doenças investigadas. O diagnóstico sorológico foi feito com o teste de Imunodifusão em Ágar Gel (IDGIA) utilizando kit comercial. Realizou-se o exame sorológico (IDGIA) de uma

Artigo: Levantamento epidemiológico das lentivirose de pequenos ruminantes no Cariri.

Research, Society and Development, v. 11, n. 14, e242111436264, 2022
(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36264>

Levantamento epidemiológico das lentivirose de pequenos ruminantes no Cariri ocidental paraibano, Nordeste do Brasil

Epidemiological survey of lentiviruses in small ruminants in western Cariri of Paraíba, Northeast Brazil

Encuesta epidemiológica de lentivirus en pequeños rumiantes en el Cariri occidental de Paraíba, Noreste de Brasil

Recebido: 07/10/2022 | Revisado: 19/10/2022 | Aceitado: 20/10/2022 | Publicado: 07/11/2022

Renato Vaz Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1084-3816>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: renatoavazalves@gmail.com

Andrea de Souza Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0062-6882>
Serviço Nacional de Aprendizagem Rural, Brasil
E-mail: daa_zoni@hotmail.com

Jonas Borges de Moura

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4929-9093>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: jonas.borges@gmail.com

Camila Almeida Azevedo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4799-8747>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: azevedocamila@gmail.com

Nikolas Gabriel Costa Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2360-7664>
Centro Universitário Doutor Lauro Sampaio, Brasil
E-mail: nikolagabrielcosta@gmail.com

Sérgio Alves Nascimento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6670-794X>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: Sergio.comelo@gmail.com

Davi dos Santos Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9497-0547>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: davidosantosr@gmail.com

Barbara Ferreira de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7463-6156>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: barbaraferreiradealmeida@gmail.com

Roberto Soares de Castro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4754-4833>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: robertosoarescastro@gmail.com

Severino Silvano dos Santos Higino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1784-7461>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: severino.silvano@professor.ufcg.edu.br

Resumo

Os lentivirus de pequenos ruminantes estão presentes em grande parte dos países que possuem atividade de caprinocultura, porém no Nordeste brasileiro, onde se concentra 92,8% do rebanho nacional, é necessário a conscientização dos criadores e a criação de programas de controle efetivos para o vírus nos rebanhos. O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento epidemiológico das lentivirose de pequenos ruminantes no cariri ocidental paraibano, Nordeste do Brasil. Foi realizada amostragem probabilística, estratificada, em dois estágios: no primeiro, foram selecionadas aleatoriamente as propriedades rurais, e no segundo, também aleatoriamente,

Artigo: First report of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 detection in two asymptomatic cats in the state of Pernambuco, Northeastern Brazil. *Veterinary World*.

Veterinary World, EISSN: 2231-0916
Available at www.veterinaryworld.org/Vol.14/October-2021/36.pdf

RESEARCH ARTICLE
Open Access

First report of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 detection in two asymptomatic cats in the state of Pernambuco, Northeastern Brazil

Ivyson da Silva Epifanio¹, Davi dos Santos Rodrigues², Leonardo Borges de Lima³,
Maria Aurea de Azevedo Nogueira⁴, Laelia Reginae do Monte Pessoa Felix⁵, Barbara Ferreira de Almeida⁶,
Claudia Kathariny da Silva Farias⁷, Otavio Valerio de Carvalho⁸, Rita de Cassia Carvalho Maia⁹,
Luiz Eduardo Ristow¹⁰, David Soeiro Barbosa¹, Juliana Arena Galhardo¹, Christina Pettan-Brewer¹,
Louise Bach Kmetiuk¹, Rafael Garabet Agopian¹, Valeria Dutra¹, Helio Aufran de Morais¹,
Andrea Pires dos Santos¹⁰, Alexander Welker Biondo⁴ and Daniel Friguglietti Brandespim¹

1. Department of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil; 2. TECSA Animal Reference Laboratory, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil; 3. Department of Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil; 4. Department of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil; 5. Department of Comparative Medicine, School of Medicine, University of Washington, Seattle, Washington, USA; 6. Department of Veterinary Medicine, Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil; 7. Department of Veterinary Medicine, University of Santo Amaro, São Paulo, Brazil; 8. Department of Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Federal University of Mato Grosso, Cuiabá, Mato Grosso, Brazil; 9. Department of Clinical Sciences, Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA; 10. Department of Comparative Pathobiology, College of Veterinary Medicine, Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA.

Corresponding author: Alexander Welker Biondo, e-mail: abiondo@ufpr.br

Co-authors: ISE: Ivyson_7@hotmail.com, DSR: davidossantosr@gmail.com, LBL: borgesmedvet@hotmail.com, MAAN: aureaazevedovet@gmail.com, LRMPF: laeliapessoa@gmail.com, BFA: barbaraferreiradealmeida@gmail.com, CKSF: claudiakfarias@hotmail.com, OVC: otaviovalerio@tecsa.com.br, RCCM: r.carvalhomaia@gmail.com, LER: ristow@tecsa.com.br, DSB: davidsoeiro@gmail.com, JAG: juliana.galhardo@ufms.br, CP: kcpb@uw.edu, LBK: louisebachk@gmail.com, RGA: rafael.agopian@gmail.com, VD: valeriadutra.dutra@gmail.com, HAM: heliodemorais@gmail.com, APS: santos1@purdue.edu, DFB: danielbrandespim@gmail.com

Received: 08-06-2021, **Accepted:** 24-09-2021, **Published online:** 31-10-2021

doi: [www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.2839-2842](https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2839-2842) **How to cite this article:** da Silva Epifanio I, dos Santos Rodrigues D, de Lima LB, de Azevedo Nogueira MA, do Monte Pessoa Felix LR, de Almeida BF, da Silva Farias CK, de Carvalho OV, de Cassia Carvalho Maia R, Ristow LE, Barbosa DS, Galhardo JA, Pettan-Brewer C, Kmetiuk LB, Agopian RG, Dutra V, de Morais HA, dos Santos AP, Biondo AW, Brandespim DF (2021) First report of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 detection in two asymptomatic cats in the state of Pernambuco, Northeastern Brazil, *Veterinary World*, 14(10): 2839-2842.

Abstract

Background and Aim: Despite worldwide case reports, including Brazilian cases, no frequency study on infection of pets by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has been conducted to date in Brazil. Accordingly, the present study was aimed to assess dogs and cats belonging to positive owners in Recife, Northeastern Brazil.

Materials and Methods: This was a longitudinal prospective study on dogs and cats in the city of Recife whose owners were in isolation at home due to a confirmed laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 through reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-qPCR). Oral and rectal swabs from the pets were tested for the presence of SARS-CoV-2-specific RNA by means of RT-qPCR.









Results: Among the pets tested, 0/16 dogs and 2/15 cats were positive for SARS-CoV-2. Interestingly, the two positive cats were owned by two unrelated asymptomatic veterinary students, which, therefore, post a warning to veterinarians worldwide.

Artigo: Diagnóstico comparativo de *Ehrlichia* spp. para a construção de soroteca.



<https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n11a957.1-6>

Diagnóstico comparativo de *Ehrlichia* spp. para construção de soroteca

Vanessa Alessandra de Barros Portela¹ , Camila Pereira dos Santos² , Emanuel Servio Coqueiro dos Santos², Ivone de Mello Queiroz² , Catarina Paula da Silva Ramos² , Thais Melquiades de Lima³ , Bárbara Ferreira de Almeida⁴ , Amanda Mota Vieira⁵ , Rita de Cássia Carvalho Maia^{6*} 

¹Médica Veterinária Técnica de Campo na Empresa Ceva Saúde Animal, Paulínia - SP Brasil.

²Pesquisador da Empresa Biogem Indústria e Comércio Ltda., Recife - PE Brasil.

³Doutoranda em Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto - SP Brasil.

⁴Residente em Virologia, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife - PE Brasil.

⁵Pós-doutoranda em Biotecnologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife - PE Brasil.

⁶Professora da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife - PE Brasil.

*Autor para correspondência, E-mail: r.carvalho.maia@gmail.com

Resumo. A erliquiose monocítica canina é uma enfermidade infecciosa de caráter zoonótico com distribuição mundial, transmitida por carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus* que carregam a *Ehrlichia canis*, bactéria responsável pela doença. A doença apresenta três fases: aguda, subclínica e crônica cuja abordagem terapêutica e diagnóstico acurado dependem diretamente dessas fases da doença. As técnicas de diagnóstico se baseiam em análise direta do sangue, biologia molecular e também na presença de anticorpos. Neste estudo foi realizada uma análise comparativa da eficácia diagnóstica entre as técnicas de Ensaio imunoenzimático (ELISA) e Reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) com o diagnóstico clínico/hematológico. Através da análise da presença de material genético de *E. canis* e da detecção de anticorpos anti-IgG de *Ehrlichia* spp., em amostras de sangue de 49 cães da região metropolitana de Recife, PE. Os resultados da comparação entre os exames clínico/hematológico com os de ELISA foram divergentes em 33% dos casos. Além disso, dos dois métodos (ELISA e qPCR), concluiu-se que qPCR apresentou ser o método mais sensível quando utilizado na fase aguda da doença. O ELISA mostrou-se essencial para uma avaliação tardia da doença, com uma quantidade muito reduzida do patógeno, mas apresenta anticorpos específicos para a doença, reduzindo a possibilidade de resultados falso-negativos. Além disso, a confiabilidade no exame clínico, mesmo aliado ao hematológico, em especial a contagem de plaquetas, não pode ser considerada definitiva, sendo de grande importância associar outros testes diagnósticos para a complementaridade do diagnóstico. Dessa forma, nos nossos resultados ficou claro a importância da utilização de testes complementares para a elaboração do diagnóstico seguro da doença.

Palavras-chave: Erliquiose, canino, infecção, ELISA, qPCR

E-poster MEDTROP 2022: Yellow Fever Contingency Plan in the Surrounding Areas of an Atlantic Forest Reserve in Caruaru-PE.



10^o CONGRESSO DE MEDTROP - Recife (Peru) 2022

Contatos dos autores:
Lavinia Sobral Barreto (vinha300@gmail.com)
Lilian Aderne Leite Barbosa (lilijantbarbosa@gmail.com)



UFRPE

ID: 974- YELLOW FEVER CONTINGENCY PLAN IN THE SURROUNDING AREAS OF AN ATLANTIC FOREST RESERVE IN CARUARU-PE

Lilian Aderne Leite Barbosa¹; Lavinia Sobral Barreto Nunes¹; Daniel Friguglietti Brandespin²; José Wilton Pinheiro Junior³; Rêa de Cássia Carvalho Maia^{2*}

¹ Gerência de Vigilância em Saúde, Caruaru, PE e PMPSU/UFRPE, Recife, PE, Brasil
² Federal Rural University of Pernambuco, Dom Manoel de Medeiros Street, 5/VI, Recife-PE, Brazil, 52171-900.

INTRODUCTION

Sylvatic Yellow Fever (YF) has shown an irregular cycle of re-emergence in Brazil. In early 2017, the country experienced a major outbreak, the largest in the recent history of the disease, generating an environmental impact with a record of more than 7 thousand Non-Human Primates (NHP) epizootics, in addition to 201 deaths and 777 confirmed human cases. Additionally, the advent of the pandemic helped to decrease many actions towards diseases of singular importance to public health.

OBJECTIVES

Therefore, the importance of the present work relies on the relevance of Yellow Fever and the risk of re-emergence of this disease and aims to establish the territorial mapping of the Atlantic Forest Reserve Professor João Vasconcelos Sobrinho, a Natural Park of the municipality of Caruaru, Pernambuco, Brazil, as well as improving the epidemiological surveillance actions.



Figure 1. Atlantic Forest Reserve Professor João Vasconcelos Sobrinho - Head Office.
Source: Secretaria de Meio Ambiente e Sustentabilidade, 2021.



Figure 2. General Map of intervention locations.
Source: SMS file, built during this work, 2021.

MATERIAL AND METHODS

During the development of this project, we were able to establish a contingency plan with the creation of the Arbovirus Surveillance Committee for the municipality of Caruaru as well as invest in health education.

RESULTS AND CONCLUSION

The creation of the Arbovirus Surveillance Committee (Ordinance GS N°16, 30/12/2021), improved epidemiological surveillance actions, intensified *Aedes aegypti* control measures, and has been possible to observe changes in surveillance results with an increase in Non-Human Primate exposure notifications. Moreover, the actions include performing seminars, developing supporting material for health professionals and the community, and training of health and environmental professionals. Therefore, the informed population have been more actively engaged in protective measures. Given the national epidemiological context and characteristics of the territory, a risk scenario of introducing the disease in the region has been observed, requiring systematic work, a contingency plan, on prevention and epidemiological surveillance to avoid re-emergence of the disease.



Figure 3. Intersectional Educational Action for the reserve communities and surrounding areas with health guidelines and services.



Figure 4. Vaccination action of workers at the reserve headquarters against FMD and other vaccines from the National Immunization Calendar.

KEYWORDS

Yellow Fever, arbovirus, epizootics, non-human primates



Folhetim, 2021



Boxine, 2022

<http://www.edicao.ufpe.br/boletim-edicao-ufpe.br/Boletim/PDF/2022/09/20220914/974AMARELA/974AMARELA%2020220914.pdf>

E-poster MEDTROP 2022: Epidemiological analysis of severe cases of human exposure to Rabies in Caruaru, Pernambuco, Brazil.



Contatos dos autores:
Lavinia Sobral Barreto (vinha300@gmail.com)
Lilian Aderne Leite Barbosa (lillianbarbosa@gmail.com)



1126- Epidemiological analysis of severe cases of human exposure to Rabies in Caruaru, Pernambuco, Brazil

Lavinia Sobral Barreto Nunes¹; Lilian Aderne Leite Barbosa¹; Luciana Oliveira Franco²; José Wilton Pinheiro Junior²; Rita de Cássia Carvalho Maia².

¹- Gerência de Vigilância em Saúde, Caruaru/PE; PMPSU/UFRPE

²- Federal Rural University of Pernambuco, Dom Manoel de Medeiros Street, S/N, Recife-PE, Brazil, 52171-900.

INTRODUCTION

With the highest mortality rate among infectious diseases in the world Rabies is responsible for at least 59,000 human deaths per year, with its majority occurring in undeveloped countries. Dog bites are the main cause of Rabies transmission to humans in the urban areas, and its prevention is readily achieved by animal vaccination campaigns.

OBJECTIVES

This study aims to analyze data from cases reported as severe exposure of humans to rabies.

MATERIAL AND METHODS

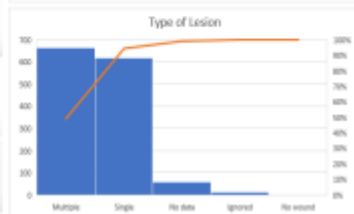
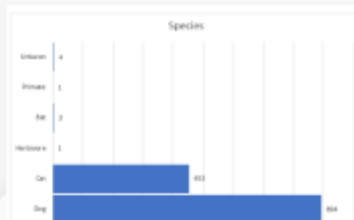
Epidemiological data from human exposure cases received by the local health authority was obtained from the Health Department of Caruaru and analyzed by relative frequency distribution.

RESULTS AND CONCLUSIONS

Our study shows that among accidents reported involving animal aggression and classified as severe in the year of 2021 in the city of Caruaru, Pernambuco, the majority were caused by dogs (65.9%), and followed by cats (33.4%), with 91.2% of reported aggressions happening in the urban area. Concerning the type of lesion and the site of the wound, the data showed multiple (49%) and single lesions (45.4%) numerically close and not related to the type of animal involved. The wound site data showed that above 80% of the registered cases did not involve the extremities or mucosa, where the lesions are considered more severe due to the increased risk of virus migration to the central nervous system. However, among the cases involving extremities of the body (head and hands) or mucosa, the hands had the higher number of reported cases (46.6%), probably due to the self-defense attitude. Taken together the evaluation of epidemiological data showed that, the high number (1,356) of total reported severe cases of human exposure to Rabies, mainly involved dogs (65.9%) in the urban area (91.2%), and taking into consideration that no cases of human or animal Rabies was reported in the year of 2021 for the city of Caruaru, it is possible to demonstrate the importance of animal mass vaccinations as a means of Rabies prophylaxis in the urban area worldwide, and the necessity to continue to apply and improve policies for prevention of this fatal disease in Brazil.

KEYWORDS

Virus, disease control, Rabies, mass vaccination, One Health



E-poster MEDTROP 2022: Epidemiological study of rabies in dogs and cats from Pernambuco, Brazil.



MEDTROP
13 a 16 novembro 2022

Contatos dos autores:
 Bárbara Ferreira de Almeida (barbaraferreiradealmeida@gmail.com)
 Amanda Mota Vieira (amandamotavieira90@gmail.com)



UFRPE

1106 EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF RABIES IN DOGS AND CATS FROM PERNAMBUCO, BRAZIL

IZOLDA CLAUDIA RODRIGUES SOUZA¹; BÁRBARA FERREIRA DE ALMEIDA¹; JERLANE TARCILIA GOMES TELLES¹; AMANDA MOTA VIEIRA¹; FRANCISCO DUARTE FARIAS BEZERRA²; JOSÉ WILTON PINHEIRO JUNIOR¹; RITA DE CÁSSIA CARVALHO MAIA¹;

¹Federal Rural University of Pernambuco, Dom Manoel de Medeiros Street, S/N, Recife-PE, Brazil, 52171-900
²Secretaria de Vigilância em Saúde – SEVS-PE

INTRODUCTION

Rabies is a lethal zoonosis that affects mammals and impacts public health worldwide.

OBJECTIVES

This work aimed to conduct an epidemiological study of Rabies in the state of Pernambuco from 2017 to 2021, and to establish a health education program at the Veterinary Hospital (HOVET) of the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE).

MATERIAL AND METHODS

Using data provided by the State Department of Health we were able to analyze the impact of Rabies in the State of Pernambuco, and in addition, a health education program was implemented at the Veterinary Hospital of UFRPE to guide and evaluate the perception of guardians about the disease, using questionnaire after the ethical committee authorization.

RESULTS AND CONCLUSION

Data from 2017 to 2021 show the occurrence of Rabies in several mammalian species. Between 2017 and 2021, there were 9 reports, with 6 dogs and 3 cats in Pernambuco, among these 1 positive cat in the capital city of Recife in 2017, the same case that generated a positive human rabies case. In 2021 was observed the highest rate with 2 positive cats and 3 positive dogs in Pernambuco, probably due to a lower vaccination range during the pandemic. The survey conducted at HOVET, 32 questionnaires were applied with guardians where 100% (32/32) knew about the disease and considered it important to protect their animals against infectious diseases. Most of the interviewees had more than 2 animals that were rescued from the streets. From the answers we highlight that among the interviewees 78.12% (25/32) had a vaccination protocol, where 53.12% (17/32) vaccinated for rabies and 34.37% (11/32) vaccinated both for rabies and other virus diseases, and 12.5% (4/32) did not receive any type of vaccine. Regarding where the vaccines were taken, more than half of the animals, 56.45% (18/32), received it in Veterinary Clinics, and the rest from other locations. Approximately 81.25% (26/32) had the annual booster and 59.37% (19/32) had it from the Rabies Campaign offered by the municipalities. The results demonstrate the importance of continued health education with the community to ratify the importance of prevention against rabies through animal vaccination.



Source: Personal file.



Year	Canine	Feline
2017	1	1
2018	1	0
2019	2	0
2020	1	0
2021	3	2

KEYWORDS

One Health; Pets; Animal Rabies; Epidemiological Surveillance