



Rede Vírus-MCTI/PREVIR-MCTI

São Paulo, 27 de fevereiro de 2023

INFORME N.03/23 REDE PREVIR-MCTI

A Rede PREVIR-MCTI, através do Instituto de Ciências Biomédicas II (ICB-II), da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) e Instituto de Medicina Tropical (IMT) da Universidade de São Paulo (USP), do Instituto de Biologia (IB) da Unicamp, da Universidade do Vale do Rio dos Sinos e Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), deu continuidade à caracterização da amostra positiva para o vírus de Influenza aviária de uma ave coletada no Parque Nacional da Lagoa do Peixe (31°16'44.4"S 50°56'09.9"W) e Litoral Médio entre os dias 03 ao 08/01/2023. Todos os oito segmentos do vírus foram sequenciados e a amostra foi identificada como pertencente ao subtipo H11N2. A análise do gene que codifica a hemaglutinina identificou o vírus como vírus de influenza aviária de baixa patogenicidade (IABP). As análises do genoma indicam que todos os segmentos, exceto o gene PB1, se agruparam com segmentos de outros vírus do subtipo H11N2 identificados na América do Norte em 2022. A análise filogenética do gene PB1 agrupou a sequência brasileira com sequências do gene PB1 encontradas em vírus de influenza aviária de alta patogenicidade (IAAP) do subtipo H5N1 previamente identificadas nos países da América do Sul. O trabalho de caracterização do vírus destaca a importância de avaliar as sequências genéticas do vírus de influenza aviária, uma vez que o vírus apresenta o rearranjo dos segmentos como mecanismo de evolução viral.

Caracterização da amostra positiva para influenza aviária.

A rede PREVIR-MCTI comunicou (Informe n.01/2023) no dia 04 de fevereiro, a identificação do vírus da influenza aviária em uma amostra (pool de suabes orofaríngeo e cloacal) coletada de um indivíduo *Calidris fuscicollis* no Parque Nacional da Lagoa do Peixe (PNLP) em janeiro de 2023. A amostra foi obtida com a intensificação da vigilância ativa de aves silvestres migratórias em diferentes regiões do Brasil pelas equipes integrantes da rede PREVIR-MCTI. A região Sul do país, em especial o Parque Nacional da Lagoa do Peixe foi selecionado pelas características ecológicas e da grande concentração de aves migratórias que chegam todo ano ao Brasil (CEMAVE, 2022). Nesta região



foram encontrados diversos vírus de influenza aviária de baixa patogenicidade (IABP) em aves silvestres migratórias (Araujo et al., 2018).

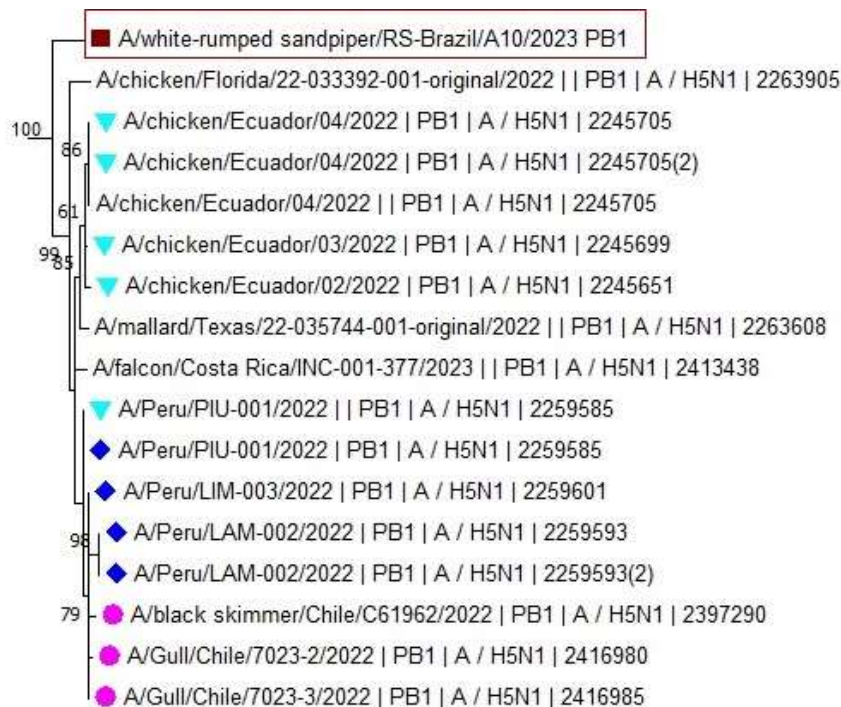
Uma alíquota desta amostra de suabe (pool de suabe orofaríngeo e cloacal) da ave da espécie *Calidris fuscicollis* (maçarico-de-sobre-branco) foi enviada para o LFDA-SP, aos cuidados da Dra. Dilmara Reischak, no dia 15 de fevereiro de 2023, para a realização da contra-prova do diagnóstico.

Os laboratórios da rede PREVIR-MCTI continuaram o processamento da amostra positiva supracitada e realizaram o sequenciamento genômico de alto desempenho (NGS) utilizando o enriquecimento da amostra conforme metodologia previamente descrita (Hoffmann et al., 2001; Zhou et al., 2009). Foi utilizada a plataforma Illumina para o sequenciamento gênico e as sequências foram obtidas no dia 23/02/2023. Análises filogenéticas foram realizadas utilizando o modelo de Maximum Likelihood baseado no método GTR (General Time Reversible) dos oito segmentos gênicos do vírus de influenza aviária. Sete de oito genes do vírus identificado na Lagoa do Peixe foram agrupados com sequências de outros vírus do subtipo H11N2 identificados em amostras de *Calidris pusilla* (maçaricos-rasteirinhos) amostrados em 2022 na Bahia de Delaware (Figura 1 ilustra as análises filogenéticas dos genes da hemaglutinina e neuraminidase). A análise do gene PB1 identificou que amostra brasileira foi agrupada com o grupo de sequências do gene PB1 obtidas do vírus H5N1 de influenza aviária de alta patogenicidade (IAAP) identificados na Florida, Chile, Peru e Equador. O gene PB1 dos IAAP H5N1 obtidos de amostras de Pelicanos na Venezuela estão agrupados em outro ramo com sequências da América do Norte (Figura 2). O gene PB1 do maçarico do apresentou uma identidade de 98 a 98,6% com as sequências do ramo mais próximo (Tabela 1)



Figura 1: Fragmento da análise filogenética dos genes que codificam as glicoproteínas hemaglutinina e neuramidase dos vírus de influenza aviária incluindo a amostra identificada no Rio Grande do Sul a partir de um animal da espécie *Calidris fuscicollis*. A) Hemaglutinina B) Neuraminidase. A amostra brasileira foi destacada com um quadrado marrom (A/White-rumped sandpiper/RS-Brazil/A10/2023).

A



B

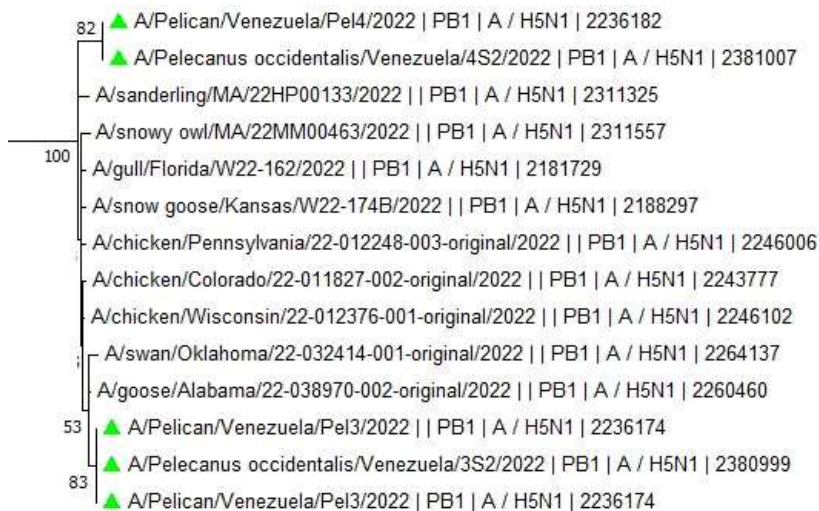


Figura 2: Fragmento da análise filogenética do gene PB1 comparando os vírus de influenza com a amostra identificada no Rio Grande do Sul a partir de um animal da espécie *Calidris fuscicollis*. A amostra na árvore foi destacada com um quadrado marrom (A/White-rumped sandpiper/RS-Brazil/A10/2023). A) Amostra brasileira foi agrupada com o grupo de sequências obtidas do vírus H5N1 de IAAP identificados na Florida, Chile (rosa), Peru (azul escuro) e Equador (azul claro). B) O gene PB1 dos vírus IAAP H5N1 obtidos de amostras de Pelicanos na Venezuela (verde) estão agrupados em outro ramo com sequências da América do Norte.



Tabela 1: Identidade genética do gene PB1 do vírus de influenza identificado nas amostras de aves silvestres. Os valores estão representados em %.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 A/white-rumped_sandpiper/RS-Brazil/A10/2023												
2 A/chicken/Ecuador/03/2022 H5N1	98,4											
3 A/Gull/Chile/7023-3/2022 H5N1	98,5	99,5										
4 A/chicken/Ecuador/04/2022 H5N1	98,4	99,9	99,5									
5 A/Peru/PIU-001/2022 H5N1	98,6	99,6	99,8	99,4								
6 A/Peru/LIM-003/2022 H5N1	98,5	99,6	100,0	99,5	99,9							
7 A/Peru/LAM-002/2022 H5N1	98,3	99,3	99,7	99,3	99,6	99,7						
8 A/chicken/Ecuador/04/2022 H5N1	98,4	99,9	99,5	100,0	99,4	99,5	99,3					
9 A/chicken/Ecuador/02/2022 H5N1	98,4	99,8	99,4	99,8	99,3	99,5	99,2	99,8				
10 A/Gull/Chile/7023-2/2022 H5N1	98,4	99,4	99,9	99,4	99,8	99,9	99,6	99,4	99,3			
11 A/falcon/Costa_Rica/INC-001-377/2023 H5N1	98,5	99,5	99,5	99,4	99,7	99,5	99,3	99,4	99,4	99,4		
12 A/mallard/Texas/22-035744-001-original/2022 H5N1	98,5	99,8	99,5	99,6	99,5	99,5	99,3	99,6	99,6	99,4	99,4	

Nossos resultados baseados nas análises do gene PB1 sugerem a introdução do vírus H5N1 nas aves silvestres da América do Sul em pelo menos dois eventos distintos pela migração das aves provenientes da América do Norte. Eles também sugerem que o vírus está circulando nas aves da América do Sul e eventos de rearranjos gênicos ocorrendo. Portanto, a vigilância local de espécies de aves com alto risco de infecção, como aves aquáticas, deve ser intensificada.



O vírus H5 do clado 2.3.4.4B do vírus IAAP se espalhou por toda a Europa, Oriente Médio, África e Ásia (FAO, 2022b) em 2020. No outono de 2021, aves silvestres migratórias introduziram o H5 HPAIV da Eurásia para a América do Norte (Bevins et al., 2022; Caliendo et al., 2022). A FAO alertou as autoridades para aumentar a vigilância do vírus em aves silvestres na América Central e do Sul quando as aves migratórias se movem ao longo das vias aéreas das áreas de reprodução no Norte para regiões mais quentes no sul. Desde outubro de 2022, já foi identificado no Uruguai, Argentina, Bolívia, Chile, Equador, Peru, Venezuela, Colômbia e outros países da América Central. O vírus foi detectado em pelo menos 160 espécies de aves silvestres, incluindo aves silvestres residentes e migratórias, e foi introduzido e aves comerciais e de subsistência em diferentes países das Américas, causando perdas econômicas substanciais (USDA, 2023). O IAAP H5 também tem sido detectado em mamíferos silvestres, demonstrando uma grande adaptação desse vírus a diferentes hospedeiros (FAO, 2022a).

Além disso, dados os relatos de casos esporádicos de influenza aviária (H5N1) em pessoas, a ampla circulação em aves e a natureza em constante evolução dos vírus da influenza, a Organização Mundial de Saúde (OMS) reitera a importância da vigilância global para detectar e monitorar mudanças virais, epidemiológicas e clínicas associadas aos vírus de influenza emergentes ou em circulação que possam afetar a saúde humana (ou animal) e o compartilhamento oportuno de vírus para avaliação de risco (WHO, 2023).

A rede PREVIR-MCTI tem dado continuidade do monitoramento dos vírus potencialmente zoonóticos em aves silvestres para identificar precocemente uma possível dispersão destes vírus na fauna silvestre brasileira e potencial transmissão para os animais domésticos. Todos os dados estão sendo disponibilizados em bases de dados públicos nacionais (PREVIR – MCTI), comunicados ao MCTI e bases internacionais (PubMed) com a posterior submissão do trabalho ao periódico científico.

Bibliografia Citada

Araujo, J., Petry, M.V., Fabrizio, T., Walker, D., Ometto, T., Thomazelli, L.M., Scherer, A.L., Serafini, P.P., Neto, I.S., Krauss, S., Webster, R.G., Webby, R.J., Durigon, E.L., 2018. Migratory birds in southern Brazil are a source of multiple avian influenza virus subtypes. *Influenza Other Respir Viruses* 12, 220-231.



- Bevins, S.N., Shriner, S.A., Jr, J.C.C., Dilione, K.E., Douglass, K.E., Ellis, J.W., Killian, M.L., Torchetti, M.K., Lenocho, J.B., 2022. Intercontinental Movement of Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N1) Clade 2.3.4.4 Virus to the United States, 2021. *Emerg Infect Dis* 28, 1006-1011.
- Caliendo, V., Lewis, N.S., Pohlmann, A., Baillie, S.R., Banyard, A.C., Beer, M., Brown, I.H., Fouchier, R.A.M., Hansen, R.D.E., Lameris, T.K., Lang, A.S., Laurendeau, S., Lung, O., Robertson, G., van der Jeugd, H., Alkie, T.N., Thorup, K., van Toor, M.L., Waldenstrom, J., Yason, C., Kuiken, T., Berhane, Y., 2022. Transatlantic spread of highly pathogenic avian influenza H5N1 by wild birds from Europe to North America in 2021. *Sci Rep-Uk* 12.
- CEMAVE 2022. Relatório de Áreas de Concentração de Aves Migratórias no Brasil, Fialho, M.S., Gomes Filho, A., eds. (Brasília, Brasil, ICMBio/MMA).
- FAO 2022a. Alerta da FAO a países da América Central e Sul: gripe aviária h5 alta Patogenicidade—risco de introdução e propagação (file:///C:/Users/helen/Downloads/ALERTA%20INFLUENZA%20AVIAR%20DE%20ALTA%20PATOGENICIDAD%20(1)%20(1).pdf, FAO).
- FAO 2022b. Globa AIV Zoonotic Update.
- Hoffmann, E., Stech, J., Guan, Y., Webster, R.G., Perez, D.R., 2001. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. *Arch Virol* 146, 2275-2289.
- USDA 2023. 2022-2023 Confirmations of Highly Pathogenic Avian Influenza in Commercial and Backyard Flocks (<https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/avian/avian-influenza/hpai-2022/2022-hpai-commercial-backyard-flocks>, USDA).
- WHO 2023. Disease Outbreak News; Avian Influenza A (H5N1) - Cambodia (<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON445>).
- Zhou, B., Donnelly, M.E., Scholes, D.T., George, K.S., Hatta, M., Kawaoka, Y., Wentworth, D.E., 2009. Single-Reaction Genomic Amplification Accelerates Sequencing and Vaccine Production for Classical and Swine Origin Human Influenza A Viruses. *J Virol* 83, 10309-10313.

Rede PREVIR-MCTI