

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE
MEDICINA VETERINÁRIA

Juciane Bonella

**TRIAGEM MOLECULAR DE ROTAVÍRUS E CORONAVÍRUS EM
POTROS COM DIARREIA EM HARAS DE BAGÉ-RS**

Santa Maria, RS
2022

Juciane Bonella

Triagem Molecular de Rotavírus e Coronavírus em Potros com Diarreia em Haras de Bagé-RS

Monografia apresentada ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Especialista em Medicina Veterinária – Área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva.**

Orientador: Prof. Dr. Rudi Weiblen
Coorientador: Prof. Dr. Eduardo F. Flores

Santa Maria, RS
2022

Juciane Bonella

**TRIAGEM MOLECULAR DE ROTAVÍRUS E CORONAVÍRUS EM
POTROS COM DIARREIA EM HARAS DE BAGÉ-RS**

Monografia apresentada ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Especialista em Medicina Veterinária – Área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva.**

Aprovada em 17 de fevereiro de 2022:

Rudi Weiblen, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Alice Silveira Becker, MSc. (UFSM)

Tháisa Regina Rocha Lopes, MSc. (UFSM)

Santa Maria, RS
2022

DEDICATÓRIA

A minha família, meu companheiro Fabiano e ao nosso filho Davi que infelizmente não está mais entre nós. Dedico aos meus colegas Thaís, Isabella, Andressa, Maria Mariana e Gustavo que, mesmo tendo partido deste mundo no início da faculdade, deixaram um legado de virtudes para que eu seguisse.

AGRADECIMENTOS

A concretização desta Residência ocorreu com o auxílio, compreensão e dedicação de uma equipe de excelentes profissionais e amigos. Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho e, de maneira especial, agradeço:

- a Deus, por esta Vida que é uma verdadeira escola e que a cada dia me ensina a ser melhor;

- à Universidade Federal de Santa Maria, pública, gratuita e de qualidade, pela oportunidade de concretizar meu ensino superior e minha especialização;

- ao meu orientador Prof. Dr. Rudi Weiblen, pelo exemplo de honestidade, dedicação, sabedoria e disposição em ajudar em tudo que fosse preciso;

- ao Prof. Dr. Eduardo F. Flores, pelos ensinamentos diários, pela confiança em mim depositada, por me incentivar a continuar estudando e pelo exemplo de Profissional dedicado e pessoa humana;

- à Equipe do Setor de Virologia, por tornarem o trabalho mais prazeroso, pela ajuda e ensinamentos diários, por se tornarem grandes amigos e confiarem em mim;

- ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde de Medicina Veterinária, por tornar possível a realização dessa residência;

Enfim a todos àqueles que fazem parte da minha vida e que são essenciais para eu ser a cada dia um ser humano melhor.

RESUMO

TRIAGEM MOLECULAR DE ROTAVÍRUS E CORONAVÍRUS EM POTROS COM DIARREIA EM HARAS DE BAGÉ-RS

AUTORA: Juciane Bonella
ORIENTADOR: Rudi Weiblen

As diarreias merecem papel de destaque dentre as enfermidades que afetam potros, pois podem causar destruição das vilosidades intestinais comprometendo o desenvolvimento e, muitas vezes, resultando na morte desses animais. Estas podem ocorrer de forma individual ou em surtos nos rebanhos, podendo ser causadas por vírus, bactérias e parasitos. Um diagnóstico preciso e ágil é fundamental para o tratamento ser efetivo e desta forma evitar prejuízos para a vida do animal e para a criação. O objetivo deste estudo foi investigar a presença de rotavírus e coronavírus equino em amostras de fezes de potros com diarreia, coletadas de Haras em Bagé/RS, Brasil, durante o período de julho a dezembro de 2019. Amostras de fezes de potros com diarreia e de suas mães foram enviadas ao Setor de Virologia da Universidade Federal de Santa Maria (SV/UFSM) para extração de RNA e realização de RT-PCR. Para isto foi realizada a extração do RNA das amostras, a síntese do cDNA através da transcrição reversa seguida de reações de PCR para amplificar regiões genômicas conservadas destes agentes: genes da proteína não-estrutural (NSP5 – ERV), nucleoproteína (N – ECoV), e leitura em gel de agarose submetido à eletroforese. Foi possível detectar sequências genômicas de rotavírus equino nas fezes de três potros, e uma dessas teve seu produto enviado para o sequenciamento de nucleotídeos que demonstrou alta similaridade com outras sequências de ERV disponíveis no GenBank, confirmando a identidade do produto. Com esse estudo buscou-se identificar a presença de rotavírus e coronavírus em potros com diarreia em haras de Bagé/RS, para posterior estabelecimento de medidas de controle e profilaxia.

Palavras-chave: Equinos. Diarreia Viral. RT-PCR. CoVE. RVE.

ABSTRACT

MOLECULAR SCREENING OF ROTAVIRUS AND CORONAVIRUS IN FOALS WITH DIARRHEA IN HARAS OF BAGE-RS

AUTHOR: Juciane Bonella

ADVISOR: Rudi Weiblen

Diarrhea deserves a prominent role among the diseases that affect foals, as they can cause damage to intestinal villi compromising the development, and often resulting in the death of these animals. These can occur individually or in outbreaks in herds, may be caused by viruses, bacteria and parasites. An accurate and agile diagnosis is essential for the treatment to be effective and thus avoid damage to the animal's life and to the breeding. The aim of this study was to investigate the presence of rotavirus and equine coronavirus in stool samples from foals with diarrhea, collected from stud farms in Bagé/RS, Brazil, during the time from July to December 2019. Stool samples from foals with diarrhea and their mothers were sent to Setor de Virologia of Universidade Federal de Santa Maria (SV/UFSM) for RNA and RT-PCR extraction. For this will be done the viral RNA extraction from the samples, the preparation of cDNA through reverse transcription followed by PCR reactions to amplify conserved genomic regions of these agents: non-structural protein genes (NSP5 - ERV), nucleoprotein (N – ECoV), and reading on agarose gel subjected to electrophoresis. It was possible to detect genomic sequences of equine rotavirus in the feces of three foals, and one of these had its product sent for nucleotide sequencing, which showed high similarity with other ERV sequences available in GenBank, confirming the identity of the product. With this study, we sought to identify the presence of rotavirus and coronavirus in foals with diarrhea in studs in Bagé/RS, for the later establishment of control measures and prophylaxis.

Key words: Equine. Viral Diarrhea. RT-PCR. ECoV. ERV.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Amostras de fezes provenientes de cinco haras de Bagé/RS.....	12
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
3 METODOLOGIA	13
3.1 LOCAL DO ESTUDO	13
3.2 AMOSTRAS	13
3.3 EXTRAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO.....	13
3.4 TRANSCRIÇÃO REVERSA	14
3.5 REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE (PCR).....	14
3.6 SEQUENCIAMENTO E ANÁLISE DE NUCLEOTÍDEOS.....	15
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5 CONCLUSÃO	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, é possível observar três grandes centros (Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo) de criação de cavalos da raça Puro Sangue Inglês, responsáveis por gerar 2.830 empregos diretos. Nesse cenário, o município de Bagé destaca-se como polo gaúcho, possuindo mais de 15 haras com plantel superior a 1,6 mil animais (MAPA, 2016). Vale ressaltar que dentre os animais domésticos de criação, os equinos são transportados internacionalmente com maior frequência, seja para competições, reprodução ou comercialização (FRIEND, 2001).

Dentre as enfermidades que acometem os equinos, estima-se que cerca de 80% dos potros, até seis meses de idade, serão acometidos por pelo menos um episódio de diarreia (OLIVER-ESPINOSA, 2018). Parreño et al. (2016) acrescenta que estes animais podem apresentar severa desidratação, podendo ocasionar a morte do potro, sendo os indivíduos mais jovens, menos de três meses de idade, e os neonatos em que ocorreu a falha de transferência de imunidade passiva, os mais susceptíveis. Outro fator importante a ser considerado é que mesmo quadros leves de diarreias podem ter importantes consequências de desempenho, devido ao ganho de peso reduzido e crescimento deficiente do potro, podendo resultar em variações da microbiota intestinal, acarretando possíveis problemas de estresse e bem-estar animal (MACH et al., 2020; GOODMAN-DAVIS; FIGURSKA; CYWINSKA, 2021).

Entre os principais agentes causadores de diarreia, vale destacar os episódios ocasionados por rotavírus equino (*equine rotavirus* - ERV) e coronavírus equino (*equine coronavirus* – ECoV). Em um estudo realizado pela Universidade da Flórida com 233 amostras de fezes diarreicas, foi detectado que 20% dessas foram causadas por ERV (FREDERICK; GIGUÈRE; SANCHEZ, 2009). Miño et al., (2017) mostram a prevalência dos genótipos do Rotavírus Equino Grupo A, na Argentina. E no Kentucky (EUA), um novo rotavírus do grupo B foi identificado como causador de diarreias generalizadas em potros, tendo esse, 96% de identidade com o rotavírus encontrado anteriormente em bovinos (UPRETY et al., 2021).

O coronavírus equino (*equine coronavirus* – ECoV) pode atuar como patógeno primário em potros jovens e imunocomprometidos ou atuar como facilitador para infecções entéricas por patógenos oportunistas (MEIRELLES et al., 2011). O ECoV tem sido associado a sinais clínicos como febre, letargia, anorexia e episódios de diarreia levando a quadros de cólica (PUSTERLA et al., 2018). Fielding et al. (2014) acrescenta que surtos de ECoV podem ter maior taxa de letalidade em animais mais jovens nos quais a carga viral eliminada nas fezes seja mais alta, estando este fator relacionado ao prognóstico do quadro clínico.

O diagnóstico pode ser realizado por diferentes técnicas laboratoriais, como o teste ELISA para antígeno pode ser utilizado para detectar o agente em amostras fecais, microscopia eletrônica. No entanto, o RT-PCR de amostras fecais apresenta maior sensibilidade e especificidade, sendo utilizado com maior frequência na rotina de diagnóstico laboratorial (MAGDESIAN; DWYER; ARGUEDAS, 2014).

Neste contexto, o presente trabalho tem por finalidade investigar a presença dos dois principais agentes virais, rotavírus e coronavírus, equino em amostras de diarreias de potros e suas mães, por meio do método de diagnóstico reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (*reverse-transcriptase polymerase chain reaction*, RT-PCR) e com base nos resultados confirmar o agente causador da diarreia por meio de sequenciamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O complexo do Agronegócio do Cavalo no Brasil movimenta mais de R\$ 16 bilhões ao ano, estima-se que são gerados direta e indiretamente 3 milhões de empregos no país (MAPA, 2016). Apesar do desenvolvimento técnico das criações, algumas enfermidades em equinos ainda persistem ocasionando perdas econômicas significativas. Dentre estas, a diarreia tem grande relevância, acometendo animais de diferentes idades, com maior gravidade nos animais jovens (FRANCO AYALA & OLIVER ESPINOSA, 2015).

Médicos Veterinários que atuam nesta área tanto “a campo” quanto na rotina de hospitais veterinários no Brasil e no exterior ressaltam a diarreia como uma das principais enfermidades dos potros nos primeiros seis meses de vida, prejudicando o desenvolvimento do animal e dificultando que esse expresse todo seu potencial genético na fase adulta (FREDERICK; GIGUÈRE; SANCHEZ, 2009).

Entre os diversos patógenos entéricos, os principais agentes causadores de diarreia são: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Rhodococcus equi*, *Clostridium difficile* e *perfringens*, *Lawsonia intracellularis*; Rotavírus, Coronavírus; *Strongyloides westeri*, *Strongylus vulgaris*, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* sp. (MEIRELLES et al., 2011; SLOVIS et al., 2013).

O rotavírus equino (ERV) e o Coronavírus equino (EcoV) estão entre os principais agentes virais responsáveis por causar diarreia em potros. O ERV é um vírus RNA fita dupla, não envelopado, pertencente ao gênero *Rotavirus*, família *Reoviridae* (ALFIERI et al., 2017). O RV é frequente nas populações equinas, havendo evidências de infecções de forma natural, incluindo a alta prevalência de anticorpos em equinos adultos; a transmissão do vírus ocorre pela via fecal-oral pelas fezes ou fômites altamente contaminados, o período de incubação é de 12 a 24 horas. A idade média dos potros com diarreia por rotavírus é de 75 dias, ocorrendo diarreia por um período de 1 a 9 dias (DWYER, 2001). Comumente, vários potros

são afetados em um curto espaço de tempo, sendo uma doença altamente contagiosa. Os animais infectados têm a capacidade de excretar o vírus por um período de 10 dias a 8 meses, podendo esse persistir no ambiente por até nove meses (SLOVIS et al., 2013).

Após o vírus ingressar no trato gastrointestinal, invade e se replica rapidamente nas vilosidades intestinais, especificamente no duodeno e jejuno. O resultado da infecção é a diminuição das vilosidades e do epitélio celular, resultando em ausência de dissacaridases, especialmente lactase, fazendo com que este alimento ingerido permaneça no lúmen intestinal, como uma solução hiperosmótica, levando a má digestão, deficiência na absorção dos nutrientes e diarreia aguda. As células intestinais da cripta não são afetadas, apenas as células do ápice das vilosidades (DWYER, 2001). Essa manifestação clínica ocasiona grandes alterações metabólicas, como rápida desidratação, desequilíbrio ácido básico e hidroeletrólítico, podendo levar o potro a morte (MEIRELLES et al., 2011).

A infecção por ECoV, um vírus RNA envelopado, fita simples, de sentido positivo, gênero *Betacoronavirus* e família *Coronaviridae*, causador de doenças em humanos e animais domésticos (BRANDÃO et al., 2017) ocorre pela transmissão fecal-oral e também outras formas de contágio podem ser possíveis, como por via respiratória e por fômites. A infecção “*in vivo*” pode ser disseminada, causando infecções sistêmicas, ou restritas a alguns tipos de células, como células epiteliais do sistema respiratório ou entérico e macrófagos (ARGUEDAS, 2007; BRANDÃO et al., 2017).

O ECoV age como patógeno primário em potros jovens imunocompetentes (MEIRELLES et al., 2011). A patogenicidade deste agente resulta em danos às vilosidades da mucosa intestinal, levando à diminuição da capacidade absorptiva. A alteração no transporte eletrólítico e na secreção de enzimas intestinais ocorre secundariamente ao dano do epitélio, contribuindo na má absorção dos nutrientes e, agravando ainda mais o quadro de diarreia (DAVIS et al., 2000; MEIRELLES et al., 2011).

A necessidade de identificar o paciente de risco e decidir qual o melhor momento para intervir no plano terapêutico depende dos exames complementares a serem realizados, e do diagnóstico etiológico quando realizado logo no início dos sinais clínicos, o que irá permitir uma rápida e adequada intervenção, aumentando as chances de sobrevivência do potro (FEARY & HASSEL, 2006).

O diagnóstico laboratorial é realizado a partir de diferentes técnicas, como ELISA, microscopia eletrônica e PCR. A utilização da técnica de RT-PCR (transcrição reversa da reação em cadeia da polimerase) é amplamente utilizada para pesquisa da presença de vírus RNA nas fezes de equinos, pois possui alta sensibilidade e especificidade e proporciona a sua identificação podendo ser confirmada pela posterior utilização da técnica de sequenciamento de nucleotídeos

(MAGDESIAN; DWYER; ARGUEDAS, 2014).

3 METODOLOGIA

3.1 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Setor de Virologia (SV), localizado no Prédio 63 – A (Centro de Eventos) na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

3.2 AMOSTRAS

As amostras foram coletadas no período de julho a dezembro de 2019 e recebidas no Setor de Virologia no ano de 2020, totalizando 70 amostras de fezes, destas 35 amostras de potros com diarreia e 35 amostras de suas respectivas mães, provenientes de cinco haras de equinos da raça Puro-sangue inglês do município de Bagé/RS. As amostras foram coletadas da ampola retal e acondicionadas em tubo Falcon 50 ml, armazenadas a -20°C até envio ao laboratório. No laboratório, foram processadas para a extração de RNA e reação de transcrição reversa e polimerase em cadeia (RT-PCR).

3.3 EXTRAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO

A extração de RNA foi realizada utilizando TRIzol™ Reagent. Utilizando 1 grama de amostra de fezes diluído em 4 ml de MEM (meio essencial mínimo), homogeneizado e centrifugado a 1.010 xg por 5 minutos em temperatura de 4°C. Para cada amostra processada, 0,330 ml de sobrenadante foi adicionado a 1 ml de TRIzol™ Reagent, homogeneizado por pipetagem e estocado por cinco minutos em temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados 0,2 ml de clorofórmio, agitado vigorosamente e incubado por três minutos. As amostras foram, então, centrifugadas a 17.550 xg por quinze minutos, e a fase aquosa superior resultante transferida para novo microtubo. Adicionou-se a fase aquosa 0,5 ml de isopropanol, incubado por 10 minutos e centrifugado a 17.550 xg por dez minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet com RNA ressuspensão em 0,5 ml de etanol 75%. O resultante centrifugado a 8.086 xg por cinco minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento secado naturalmente por cinco minutos. O pellet foi ressuspensão em 40 microlitros de água livre de RNAase e incubado em banho Maria a 65°C por 10 minutos. O RNA extraído foi armazenado a -80°C até

o uso.

3.4 TRANSCRIÇÃO REVERSA

Para a confecção do cDNA foi utilizado o Kit GoScript™ Reverse Transcription Mix, Random Primer Protocol (PROMEGA), seguindo suas recomendações de volumes e programa de termo ciclagem. Para a transcrição de RNA para uma fita complementar de DNA (cDNA) foi preparado 10 microlitros de mix (4 µL de random primer, 2 µL da enzima e 4 µL de água livre de RNAase) para 10 µL de amostra, totalizando 20 µL de amostra para reação. O termociclador foi programado conforme instruções do fabricante, um ciclo de 10 min a 25°C, 120 min a 37°C e 5 min a 85°C, com estabilização final a 4°C. O cDNA foi, então, armazenado a -20°C até a realização da PCR.

3.5 REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE (PCR)

Foram realizadas reações de PCR em termociclador automático utilizando primers desenhados pelo Professor colaborador do SV José Valter Joaquim Silva Júnior para amplificar um fragmento de 170 pares de bases do gene da proteína NS5P de Rotavírus: Rota-NS5PF: CTTTCTGGAAAATCTATTRGTAG, Rota-NSP5R: GCATTTGTCTTAACTGCAT. Já para a amplificação de um fragmento de 416 pares de base do gene da proteína N de Coronavírus foi utilizado: BECoV-N-F: CAAACCAGRGGTAGAAGAG, BECoV-N-R: CTAGTCGGAATAGCCTCATC.

As reações de PCR foram realizadas em total de 25 µl, utilizando 1 mM de MgCl⁺⁺, 100 µM de cada desoxinucleotídeo (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 1 µM de cada primer, 2 U de *Taq* DNA *Polymerase*, 10% do volume total de tampão da polimerase, 2 µL de DNA molde e água q.s.p., que foram submetidas a um ciclo de desnaturação da dupla fita de DNA a 94 °C por 5 minutos, 35 ciclos de 94 °C por 30 segundos (desnaturação), 50°C por 30 segundos (anelamento) e 72 °C por 30 segundos (extensão), e uma extensão final a 72 °C por 7 minutos. Em cada reação foram utilizados controles negativos (água milli-Q) e positivo (produto amplificado a partir do antígeno de uma vacina comercial). Os produtos foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% a 80 Volts por 40 minutos, e este foi visualizado em transiluminador de luz UV.

3.6 SEQUENCIAMENTO E ANÁLISE DE NUCLEOTÍDEOS

Os produtos da amplificação por PCR foram purificados com o uso do Kit PCR PureLink® (Life Technologies, CA, USA) e submetidos ao sequenciamento de nucleotídeos em quadruplicata pelo método Sanger (com corante BigDye), utilizando equipamento ABI-Prism 3500 GeneticAnalyzer (Life Technologies, CA, USA). A partir das sequências de nucleotídeos, foi obtida a sequência consenso utilizando o programa Staden Package (STADEN, 1996). A fim de se obter a confirmação da identidade, a sequência consenso foi submetida a análise de similaridade de nucleotídeos utilizando o software Blastn (ALTSCHUL et al., 1990) disponível em <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, o qual realiza a busca e comparação com sequências disponíveis no banco de dados “GenBank”.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 70 amostras provenientes de cinco haras de Bagé/RS, sendo 35 (35/70-50%) de potros com diarreia e 35 (50%) de suas respectivas mães. Desse total de potros detectou-se rotavírus em 3 (8,6%) amostras e em nenhuma amostra foi detectado coronavírus. Já nas amostras das mães não foram detectados nenhum dos dois agentes virais (tabela 1).

Tabela 1 – Amostras de fezes provenientes de cinco haras de Bagé/RS

Amostras	Rotavírus	Coronavírus
Potros 35	3 (8,6%)	0
Éguas 35	0	0
Total 70	3	0

Uma das três amostras positivas para ERV teve seu produto de RT-PCR processado e enviado para o sequenciamento de nucleotídeos, após o processamento dos resultados recebidos a sequência consenso foi submetida a análise de comparação no software Blast, na qual demonstrou alta similaridade com outras sequências de ERV disponíveis no GenBank, confirmando a especificidade dos primers utilizados e o resultado obtido no RT-PCR.

O baixo índice de amostras positivas aqui encontradas corrobora com um estudo realizado no Paquistão, com 400 potros (318 equinos e 82 asininos) com diarreia, onde um baixo índice de animais acometidos por rotavírus foi constatado (71/400) (HAQ et al., 2017).

Em contrapartida, um outro estudo ressalta uma maior distribuição mundial do ERV, sendo importante causa de gastroenterite em potros jovens, identificado em 20 a 77% dos casos, e responsável por perdas econômicas e morte de animais (MAGDESIAN; DWYER; ARGUEDAS, 2014).

Durante as últimas três décadas foi observado que em mais de 99% dos casos, as cepas de ERV pertenciam a dois genótipos em comum, o G3P e o G14P, incluindo importantes criatórios da raça Puro Sangue Inglês como Argentina e EUA (PAPP et al., 2013; MIÑO et al., 2017; CAROSSINO et al., 2018). Embora em nosso estudo, a genotipagem não tenha sido realizada, o conhecimento dos principais genótipos presentes no rotavírus é fundamental para futuro desenvolvimento de uma vacina brasileira e também o controle da efetividade das principais vacinas comercializadas em outros países, tendo em vista que um caso de diarreia por rotavírus com genótipo diferente já foi relatado no Japão por Nemoto et al. (2020).

No presente estudo, não foi detectado coronavírus em nenhuma das amostras analisadas. Neste mesmo sentido, na região central do estado de São Paulo foi realizado um estudo com amostras fecais de 56 potros com diarreia e 60 não diarreicos, onde também não foi observada a presença de coronavírus, sugerindo que este agente possivelmente não estaria relacionado com essa doença na região (OLIVO et al., 2016).

Por outro lado o ECoV foi reconhecido em países como Japão, EUA e na Europa como um vírus clinicamente importante, sendo responsável cada vez mais por relatos de doenças em cavalos adultos (PUSTERLA et al. 2018). De acordo com Brandão et al. (2006), potros doentes ou mesmo cavalos adultos que eliminem o vírus nas fezes, podem representar um risco de contaminação principalmente para animais em que ocorreu falha na transferência de imunidade passiva, como nos casos dos neonatos. Ao coletarem 337 swabs retais de potros diarreicos e 120 de potros saudáveis, Nemoto et al. (2011), identificaram a presença desse agente em apenas três amostras de potros saudáveis e em nenhuma do grupo de indivíduos com sinais clínicos, demonstrando que somente a presença do vírus não é suficiente para desenvolver a infecção.

O ECoV pode causar diarreia em potros, mas pode ser mais importante em coinfeções com outros patógenos (MAGDESIAN; BARNUM; PUSTERLA, 2021). Em um levantamento epidemiológico realizado no estado do Kentucky-EUA, quando analisado as coinfeções, o coronavírus foi significativamente associado com a doença em potros, indicando que a pré-existência do coronavírus facilita infecções secundárias por enteropatógenos oportunistas, pela diminuição da resposta imunológica local, como relatado em outras espécies (SLOVIS et al., 2014).

Goodrich et al. (2020) sugere que todos os equinos em risco de doença devem ser testados e não somente aqueles que apresentem sinais clínicos, e salienta que animais com ou sem sinais clínicos podem excretar o vírus por longos períodos de tempo, fazendo com que a infecção permaneça no ambiente. Slovis et al. (2010) acrescenta que as taxas de coinfeções (vírus e bactéria ou vírus e protozoários) são muitas vezes subestimadas, e desta forma o teste de PCR é uma forma rápida e segura para diagnóstico e identificação do agente.

Tento em vista que a criação de equinos é um mercado de importância mundial, faz-se necessário que as pesquisas de caráter preventivo e de diagnóstico continuem evoluindo, afim de possibilitar que cada indivíduo venha a desempenhar seu papel atlético, reprodutivo e comercial sempre aliado a sanidade e bem estar animal.

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, foi possível verificar a presença de rotavírus equino nas fezes de três potros no município de Bagé. Embora não tenha sido observada a presença de coronavírus nestas amostras, não se deve descartar o envolvimento desse agente em episódios ou surtos de doenças entérica em equinos na região.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFIERI, A.A et al. Reoviridae. In: **Virologia Veterinária**. Santa Maria: editora UFSM, 2017. Cap.32, p. 957 – 1005.
- ALTSCHUL, S. F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, n. 3, p. 403–410, 5 out. 1990. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)>. Acesso em: 07 fev. 2022.
- ARGUEDAS, M. G. Coronavirus infections. **Equine Infectious Diseases**. 1ed. SAUNDERS: Sellon & Long, 2007. p.18-32.
- BRANDÃO, P. E. et al. An enteric coronavirus in a 3-day-old diarrheic foal. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, p. 101-103, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1808-1657v73p1012006>>. Acesso em: 22 nov. 2021.
- BRANDÃO, P.E et al. Coronaviridae. In: **Virologia Veterinária**. Santa Maria: editora UFSM, 2017. Cap.25, p. 737 – 767.
- CAROSSINO, M. et al. Detection, molecular characterization and phylogenetic analysis of G3P [12] and G14P [12] equine rotavirus strains co-circulating in central Kentucky. **Virus research**, v. 255, p. 39-54, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2018.05.025>>. Acesso em: 10 jan. 2022.
- DAVIS, E. et al. Neonatal enterocolitis associated with coronavirus infection in a foal: a case report. **J. Vet. Diag. Invest.**, p.153-156, 2000. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/104063870001200210>>. Acesso em: 20 out. 2021.
- DWYER, R. M. Control and prevention of foal diarrhea outbreaks. **Proceedings of the annual convention of the AAEP**, 2001. Disponível em: <<https://www.ivas.org/sites/default/files/library/aaep/2001/91010100472.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2021.
- FEARY, D. J.; HASSEL, D. M. Enteritis and Colitis in Horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, p. 437–479, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cveq.2006.03.008>>. Acesso em: 20 out. 2021.
- FIELDING, C. L. et al. Disease associated with equine coronavirus infection and high case fatality rate. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 29, n. 1, p. 307-310, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jvim.12480>>. Acesso em: 10 out. 2021.
- FRANCO AYALA, M. S.; OLIVER ESPINOSA, O. J. Estudio de la morbilidad, mortalidad y de enfermedades en potros de caballo criollo colombiano durante los 30 primeros días de vida en la sabana de Bogotá. **Rev. Med. Vet. Bogotá**, n.30, p.67-82, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-93542015000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 24 set. 2021.
- FREDERICK, J.; GIGUÈRE, S.; SANCHEZ, L. C. Infectious agents detects in the feces of diarrheic foals: a retrospective study of 233 cases (2003-2008). **J. Vet. Med.**, Georgia, v.23,

1254-1260, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0383.x>>. Acesso em: 24 set. 2021.

FRIEND, T. H. A review of recent research on the transportation of horses, **Journal of Animal Science**, v. 79, issue suppl_E, p.E32–E40, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.2527/jas2001.79E-SupplE32x>>. Acesso em: 14 dez. 2021.

GOODMAN-DAVIS, R.; FIGURSKA, M.; CYWINSKA, A. Gut Microbiota Manipulation in Foals—Naturopathic Diarrhea Management, or Unsubstantiated Folly?. **Pathogens**, v. 10, n. 9, p. 1137, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/pathogens10091137>> Acesso em: 24 set. 2021.

GOODRICH, E. L. et al. Novel findings from a beta coronavirus outbreak on an American Miniature Horse breeding farm in upstate New York. **Equine veterinary education**, v. 32, n. 3, p. 150, 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7163602/>>. Acesso em: 06 jan. 2022. DOI: 10.1111/eve.12938.

HAQ, I. et al. A study on causes of pathogenic diarrhea in foals in Punjab, Pakistan. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 56, p. 88-92, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.05.010>>. Acesso em: 24 set. 2021.

MACH, N. et al. Priming for welfare: gut microbiota is associated with equitation conditions and behavior in horse athletes. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-19, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32433513/>>. Acesso em: 06 jan. 2022.

MAGDESIAN, K. G.; DWYER, R. M.; ARGUEDAS, M. G. Viral Diarrhea. In: SELLON, D.C; LONG, M.T. **Equine Infectious Diseases**, 2.ed. Washington: Elsevier, 2014. cap 18, p. 198-205. Disponível em< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7152248/>>. Acesso em 24 set. 2021. DOI: 10.1016/B978-1-4557-0891-8.00018-X.

MAGDESIAN, K. G; BARNUM, S; PUSTERLA, N. Fecal PCR testing for detection of Clostridium perfringens and Clostridioides difficile toxin genes and other pathogens in foals with diarrhea: 28 cases. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 2021. Disponível em:< <https://doi.org/10.1177/10406387211047529>>. Acesso em: 06 jan. 2022.

MAPA [Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento]. **Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo**. Brasília, DF: MAPA, 2016. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais/tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/anos-anteriores/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo>>. Acesso em: 05 out. 2021.

MEIRELLES, M. G. et al. Enterite associada à infecção por coronavírus em potros puro sangue inglês em um haras no Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p. 605-608, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1808-1657v78p6052011>>. Acesso em: 05 out. 2021.

MIÑO, S. et al. Molecular characterization of equine rotavirus group A detected in Argentinean foals during 2009–2014. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 59, p. 64-70, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.09.008>>. Acesso em: 05 out.

2021.

NEMOTO, M. et al. Molecular characterization and analysis of equine rotavirus circulating in Japan from 2003 to 2008. **Veterinary Microbiology**. v.152, p. 67-73, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.04.016>>. Acesso em: 05 out. 2021.

NEMOTO, M. et al. Isolation and characterization of a rare group A rotavirus G13P [18] strain from a diarrhoeic foal in Japan. **Journal of General Virology**, v. 101, n. 8, p. 800-805, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1099/jgv.0.001437>>. Acesso em: 06 jan. 2022.

OLIVER-ESPINOSA O. Foal Diarrhea: Established and Postulated Causes, Prevention, Diagnostics, and Treatments. **Vet Clin North Am Equine Pract**. p. 55-68, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29395727/>>. Acesso em: 23 set. 2021. DOI: 10.1016/j.cveq.2017.11.003.

OLIVO, G. et al. Enteric Pathogens and Coinfections in Foals with and without Diarrhea. **BioMed research international**, 2016. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1155/2016/1512690>>. Acesso em: 23 set. 2021.

PAPP, H. et al. Global distribution of group A rotavirus strains in horses: a systematic review. **Vaccine**, v. 31, n. 48, p. 5627-5633, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.08.045>>. Acesso: 17 out. 2021.

PARREÑO, V. et al. Equine rotavirus in Argentinean foals: an overview. **Jornal of Equine Veterinary Science**. Argentina, 2016. Disponível em: <http://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/1025/INTA_CICVyA_InstitutodeVirologia_Parre%C3%B1o_V_Equine_rotavirus_in_Argentinean_foals.pdf?sequence=1>. Acesso em: 23 set. 2021.

PUSTERLA, N. et al. Enteric coronavirus infection in adult horses. **The Veterinary Journal**, v. 231, p. 13-18, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7110460/>>. Acesso em: 05 out. 2021. DOI: 10.1016/j.tvjl.2017.11.004.

SLOVIS, N. M. et al. Comprehensive analysis of infectious agents associated with diarrhea in foals in Central Kentucky. In: **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**. 2010. Disponível em: <<https://aaep.org/sites/default/files/issues/proceedings-10proceedings-z9100110000262.pdf>>. Acesso em: 05 out. 2021.

SLOVIS N. M. et al. Infectious agents associated with diarrhoea in neonatal foals in central Kentucky: A comprehensive molecular study. **Equine Veterinary Journal**. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/evj.12119>>. Acesso em: 23 set. 2021.

SLOVIS, N. M. et al. Infectious agents associated with diarrhoea in neonatal foals in central Kentucky: A comprehensive molecular study. **Equine Veterinary Journal**, v. 46, n. 3, p. 311-316, 2014. Acesso em: <<https://doi.org/10.1111/evj.12119>>. Acesso em: 09 out. 2021.

STADEN, R. The staden sequence analysis package. **Molecular Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 233–241, jun. 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF02900361>>. Acesso em 27 jan. 2022.

UPRETY, T. et al. Identification of a ruminant origin group B rotavirus associated with diarrhea outbreaks in foals. **Viruses**, v. 13, n. 7, p. 1330, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/v13071330>> Acesso em: 27 jan. 2022.