



UNIVERSIDADE
E D U A R D O
MONDLANE

FACULDADE DE VETERINÁRIA

LICENCIATURA EM MEDICINA VETERINÁRIA

DEPARTAMENTO DE SANIDADE E SAÚDE PÚBLICA

TRABALHO DE CULMINAÇÃO DE ESTUDOS

**SEROPREVALÊNCIA DA FEBRE DO VALE DO RIFT EM BOVINOS NO DISTRITO
DE MATUTUÍNE**

Discente:

Sheron Dirca Albino Mazembe

Supervisor:

Prof. Doutor José Manuel Fafetine

Co-supervisora:

Doutora Lucinda de Araújo

Maputo, Abril de 2024

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Sheron Dirca Albino Mazembe, declaro por minha honra que o presente trabalho com o tema “Seroprevalência da Febre do Vale do Rift em bovinos no distrito de Matutuíne” é resultado da minha exclusiva autoria, e das orientações dos meus supervisores. O seu conteúdo é original e todas as fontes consultadas estão devidamente mencionadas no texto e nas referências bibliográficas. Este trabalho nunca foi usado para a obtenção de qualquer grau académico nesta ou em qualquer outra instituição de ensino.

Maputo, Abril de 2024

(Sheron Dirca Albino Mazembe)

DEDICATÓRIA

À minha Mãe, Márcia de Assucena António Chavana e ao meu tio Adérito Chavana.

Minhas fontes de inspiração, gostaria de ter a metade da força e garra que eles têm.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante em minha vida e pela graça de poder finalmente concluir este trabalho.

À minha mãe, Márcia de Assucena António Chavana pelo amor incondicional, pela sólida educação, por priorizar sempre a educação independentemente das dificuldades encontradas. Gostaria de me tornar a metade da pessoa que você é.

À minha querida irmã Shilzia Fembo Albino Mazembe, por ter estado ao meu lado em cada momento, pelas noites que passadas em claro junto comigo para que este dia chegasse. A nossa babá que está a mais de 15 anos em nossas vidas, e tem participado em cada etapa de nossas vidas, muito obrigada Faustina Vilanculos.

Aos meus tios, Adérito Chavana, Palmira Cumaio e António Júnior, pela incontestável confiança e por nunca medirem esforços para me apoiar. Aos meus avós, António Chavana e Leonilde Sive pelo apoio, amor incondicional e por estarem sempre comigo em todo os momentos de minha vida.

Ao meu supervisor, Prof. Doutor José Fafetine pela oportunidade concedida para realizar este trabalho, pelas orientações dadas, obrigada por ter sido um verdadeiro farol durante a dura realização deste trabalho.

À minha co-Supervisora, Doutora Lucinda de Araújo, que me acolheu, orientou e amou como uma mãe, que se dispôs a ajudar a todo momento e por ter dado o seu melhor para o sucesso deste trabalho, pela dedicação e paciência que foram essenciais para a conclusão deste trabalho.

À Prof. Doutora Otília Bambo, pelo incrível ser humano que demonstrou ser no momento que eu mais precisava, pelas oportunidades e pela confiança depositada em mim quando mesmo eu não acreditava em mim mesma, não encontro palavras para expressar a minha gratidão e alegria, muitíssimo obrigada.

À Prof. Doutora Cesaltina Tchamo por inúmeras vezes ter acreditado, pela forma como sempre se dispôs a ajudar e ensinar e pelo imenso carinho depositado em mim.

Aos meus grandes colegas, que tornaram esta jornada mais descontraída e menos pesada, pelo apoio e suporte que me deram durante todo o curso e pela amizade, em especial ao Filipe Marrocane, Edson Hartog, Fácia Siteo, Eunice Balane, Yurgen Matsinhe, Benjamin Moda, Tito da Silva, Jéssica Langa, Dora Cossa, Ulnisse Macamo e Anina Langa.

Às pessoas incríveis que muitas vezes foram a calma em dias difíceis, o calor em dias frios e morfina em meio da dor, muito obrigada Málick Chavana, Cesária de Jesus e Aik Quembo.

E a todos que directamente ou indirectamente fizeram parte da minha trajetória estudantil (na FAVET) muitíssimo obrigada. Espero que consiga retribuir o mínimo que cada um fez por mim.

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca registrada
°C	Graus Celcius
CB	Centro de Biotecnologia
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Ensaio de imunoabsorção enzimático)
Et al.	E colaboradores
FVR	Febre do Vale do Rift
IC	Intervalo de confiança
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
Mab	Anticorpo monoclonal
mL	Mililitro
Nm	Nanómetros
OIE	World Organization for Animal Health (Organização Mundial de Saúde Animal)
PCR	Reacção de Cadeia da Polimerase
RNA	Ácido ribonucléico
Rpm	Rotações por minuto
µL	Microlitro
VFVR	Vírus da Febre do Vale do Rift
WHO	World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

TABELAS

Tabela 1. Interpretação de resultados.....	18
Tabela 2. Seroprevalência da Febre do Vale do Rift no distrito de Matutuíne, por localidade.....	19
Tabela 3. Seroprevalência da FVR por categoria animal.....	20
Tabela 4. Avaliação estatística da associação da ocorrência de anticorpos contra o VFVR com a localização, categoria e sexo nos resultados.....	21

FIGURAS

Figura I. Distribuição geográfica da FVR	8
Figura II. Transmissão da FVR	9
Figura III. Localização geográfica das localidades incluídas no estudo.	14
Figura IV. Acondicionamento das amostras na caixa térmica	15
Figura V. Colheita de Sangue na veia coccígea de um bovino	15
Figura VI. Kit ELISA ID.VET Screen	16
Figura VII. Leitor Biotek da Placa Elisa	17

ÍNDICE

RESUMO	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. OBJETIVOS	6
2.1 Geral	6
2.2 Específicos.....	6
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
3.1 Definição	7
3.2 Etiologia	7
3.3 Epidemiologia.....	7
3.3.1 Distribuição geográfica	7
3.3.2 Espécies afectadas	8
3.3.3 Transmissão	9
3.4 Sinais clínicos	10
3.4.1 Ovinos e Caprinos.....	10
3.4.2 Bovinos.....	10
3.4.3 Humanos	10
3.5 Métodos de diagnóstico	11
3.5.1 Princípio do ELISA	11
3.6 Lesões <i>post-mortem</i>	12
3.7 Diagnóstico diferencial.....	12
3.8 Tratamento.....	12
3.9 Prevenção e controlo	13
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4.1 Área de estudo.....	14
4.2 Determinação do tamanho da amostra.....	15
4.3 Colheita de amostras de sangue	15
4.4 Preparação dos soros.....	16

4.5 Diagnóstico laboratorial.....	16
4.5.1 Procedimento do teste.....	16
4.5.2 Validação dos resultados	17
4.6 Análise de dados.....	18
5. RESULTADOS	19
6. DISCUSSÃO	22
7. CONCLUSÃO.....	25
8. RECOMENDAÇÕES	26
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

RESUMO

A Febre do Vale do Rift (FVR) é uma zoonose causada por um vírus pertencente à família *Phenuiviridae* e transmitida por vectores biológicos (mosquitos do género *Aedes* e *Culex*). A doença afecta principalmente ruminantes (ovinos, caprinos e bovinos), causando grandes epizootias com altas taxas de mortalidade em animais jovens e abortos. O vírus causador da FVR é encontrado em regiões da África Oriental, Austral, na maior parte da África Subsaariana, incluindo a África Ocidental, Madagáscar e fora do continente africano na Arábia Saudita e no Iémen. Em Moçambique, estudos realizados demonstraram evidências da circulação do vírus em algumas províncias do país, em ruminantes domésticos como em selvagens, contudo existem poucos estudos sobre a ocorrência da FVR no distrito de Matutuíne. Este estudo teve como objectivo determinar a seroprevalência do vírus em bovinos no distrito de Matutuíne, nas localidades de Gala, Salamanga, Tinonganine, Macassane, Zitundo, Futi, Guengo e Matchia. Foram colhidas 491 amostras de sangue de bovinos. Os animais foram categorizados pela idade (vitelos, novilhos e adultos) e sexo (fêmeas e machos). As amostras de sangue foram centrifugadas para a separação do soro e testadas para anticorpos anti-vírus da FVR usando um Ensaio Imunoenzimático de Inibição (ELISA). Os resultados revelaram evidências da circulação do vírus da FVR em bovinos no distrito de Matutuíne. A seroprevalência global foi de 31,9% (95% IC: 27,9 – 36,3), a maior prevalência foi encontrada na localidade de Guengo com 47,4% (95% IC: 30,9 – 64,2), seguida da localidade de Futi e Tinonganine com 43,3% (95% IC: 30,6 – 56,8) e 41,2% (95% IC: 18,4 – 67,1) respectivamente. A menor prevalência foi encontrada na localidade de Matchia com 20,7% (95% IC: 7,9 – 39,7). Os resultados mostraram que a localização geográfica e a idade dos animais foram os factores de risco para a ocorrência da FVR. A alta seroprevalência observada, demonstra a necessidade de melhorar os sistemas de vigilância e controlo para evitar futuros surtos e o conseqüente impacto económico da doença no distrito de Matutuíne e em outras localidades.

Palavras-chave: Bovino, Ensaio imunoenzimático, Seroprevalência, FVR, Factor de risco.

1. INTRODUÇÃO

A Febre do Vale do Rift (FVR) é uma enfermidade de caráter zoonótico que acomete principalmente ruminantes (ovinos, bovinos, caprinos, bubalinos e camelídeos) e os seres humanos tendo como agente etiológico um arbovírus do género *Phlebovirus* (OIE, 2014).

O vírus causador da FVR é geralmente encontrado em regiões da África Oriental e Austral, onde ovelhas e bovinos são criados, mas o vírus ocorre na maior parte da África Subsaariana, incluindo a África Ocidental e Madagascar (Daubney, 1931; Csfph, 2006). A FVR foi reconhecida pela primeira vez fora do continente Africano em 2000 com surtos notificados na Arábia Saudita e no Iémen (OIE, 2019).

Recentemente foram notificados surtos, no Níger e no Uganda em 2016 (CDC, 2017; WHO, 2016); Mauritânia em 2010, 2012-2015 (Sow *et al.*, 2012; OIE, 2014; Boushab *et al.*, 2016); Senegal 2013/14, África do Sul e Namíbia 2008-2011 (Archer *et al.*, 2013; Archer *et al.*, 2008; Métras *et al.*, 2012; Monaco *et al.*, 2010) no Quênia, Tanzânia e Somália em 2006 (WHO, 2007; WHO, 2007). Um grande número de mortes em humanos e gado foi relatado durante os surtos (CDC, 2017).

Em Moçambique, o primeiro surto da FVR ocorreu em 1969 nas províncias de Gaza e Maputo, onde grande número de bovinos e caprinos morreram e observou-se uma alta taxa de abortos devido a infecção pelo vírus (Valadão, 1969). No final de Março de 2014, após um período de chuvas fortes e persistentes no Sul de Moçambique particularmente nas províncias de Maputo e Gaza, foram relatados abortos e morte de filhotes de ruminantes em algumas explorações. A análise sorológica e PCR quantitativo e de transcrição reversa convencional confirmaram a presença do vírus da FVR, onde 56% (49/88) do gado foram positivos para IgG e 24% para IgM e o RNA do vírus da FVR foi detectado em 12 amostras de soro por RT-PCT (Fafetine *et al.*, 2016).

Evidências serológicas da circulação do vírus em Moçambique foram reportadas por diversos autores. Um estudo soropidemiológico realizado em 2007 em cinco distritos da província da Zambézia, Moçambique, em pequenos ruminantes (277 ovelhas e 377 cabras), revelou a presença de anticorpos do vírus da FVR, no teste de neutralização do vírus e no ensaio imunoenzimático de (ELISA) para a detecção da IgG. Em 2010, foi realizada uma pesquisa transversal em 313 ovelhas e 49 cabras em dois distritos da mesma província. O estudo revelou uma taxa global de soropositividade de 9,2% em ovinos e 11,6% usando IgG ELISA, mostrando que a FVR circula subclínicamente em pequenos ruminantes domésticos na província da Zambézia (Fafetine *et al.*, 2013).

Num estudo realizado por Lagerqvist *et al.* (2012) nos distritos de Boane, Magude, Manhiça, Marracuene, Matutuíne e Moamba na província de Maputo observou-se 36,9% (149/404) de seroprevalência do vírus da FVR em bovinos. Os resultados mostraram que o vírus da FVR está amplamente distribuído entre os bovinos na Província de Maputo, embora a modalidade de circulação seja desconhecida.

Em outro estudo realizado na província da Zambézia por Anne-Lie Blomström *et al.* (2016), analisou 181 amostras de pequenos ruminantes pesquisando anticorpos contra o vírus da FVR utilizando o teste ELISA, observaram maior seroprevalência em ovinos 44,2% do que em caprinos 25,1%. No trabalho foi destacada a necessidade de vigilância contínua da doença como ferramenta para detecção e controlo precoces.

Na pesquisa reportada por Moiane *et al.* (2017) em ruminantes domésticos e búfalos africanos em Moçambique observou-se que a seroprevalência global em ruminantes domésticos e búfalos africanos foi de 25,6%. Maior seroprevalência foi observada em bovinos com 37,3% e búfalos africanos com 30,4%. Nas regiões sul e centro, as seroprevalências globais foram mais elevadas com 14,9% e 62,4% respectivamente, mostrando a circulação activa do vírus em ruminantes domésticos e búfalos africanos em Moçambique.

A expansão geográfica da FVR nos últimos anos associada a elevadas perdas na produção e socioeconómicas é de grande preocupação para a saúde veterinária e pública em Moçambique.

A FVR tende a ocorrer em epidemias periódicas que podem ser devastadoras para o gado, com maior incidência no período pós chuvosos e em áreas alagadas, condições favoráveis para a eclosão dos ovos do mosquito (Davies, 2006; Mondet *et al.*, 2005). No entanto, a epidemiologia da FVR não é completamente compreendida, e baixos níveis de infecção foram identificados durante períodos interepidémicos (Mondet *et al.*, 2005; Soumare *et al.*, 2007).

A Reserva Especial de Maputo, situada no distrito de Matutuíne possui uma grande diversidade da fauna e flora, com grande variedade de insectos hematófagos e ruminantes selvagens que constituem elementos fundamentais para a manutenção do vírus da FVR. O uso das zonas tampão para o pastoreio de gado pela população circunvizinha da Reserva Especial de Maputo e consequente interação do gado com ruminantes selvagens podem favorecer a ocorrência de surtos da doença em animais domésticos.

No presente estudo, avaliou-se a seroprevalência da FVR em bovinos no distrito de Matutuíne, para compreensão da distribuição do vírus da FVR pelo distrito para alertar a classe veterinária assim como os produtores de gado de modo a aplicarem medidas preventivas e ficarem vigilantes para um controlo eficaz e redução da incidência de casos. Os resultados deste estudo também servirão como base de dados eletrônica para conhecimento da distribuição geográfica do vírus da FVR e fonte de informação para delineamento programas de vigilância epidemiológica na região como forma de evitar a sua ocorrência em casos de chuvas intensas.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Determinar a seroprevalência da febre do Vale do Rift (FVR) no distrito de Matutuíne.

2.2 Específicos

- Verificar a ocorrência da Febre do Vale do Rift no distrito de Matutuíne através da detecção de anticorpos específicos contra o vírus causador da FVR usando o teste ELISA;
- Verificar a associação da ocorrência de anticorpos contra o vírus da FVR com a idade, sexo e localização.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Definição

A Febre do Vale do Rift (FVR) é uma doença zoonótica viral aguda transmitida por mosquitos, que afecta principalmente ruminantes e é caracterizada por altas taxas de aborto, mortalidade neonatal e hepatite (Gerdes, 2004; OIE, 2019).

3.2 Etiologia

A Febre do Vale do Rift (FVR) é causada por um vírus RNA trissegmentado, pertencente à família *Phenuiviridae*, género *Phlebovirus* (Virus Taxonomy, 2017).

As partículas virais são esféricas, medindo entre 90 a 110 nm de diâmetro, sendo dotadas de um envoltório formado por lipoproteínas, que apresenta projeções protéicas de superfície. Possuem RNA de fita simples, polaridade negativa, simetria helicoidal e constituída por três segmentos com diferentes tamanhos chamados L (ácido ribonucléico do segmento grande), M (ácido ribonucléico do segmento médio) e S (ácido ribonucléico do segmento pequeno) (Fauquet *et al.*, 2005). Os segmentos L e M são de polaridade negativa e segmento S tem codificação bidirecional ou RNA ambiense (Gerdes, 2004; Paweska, 2015).

O vírus causador da FVR consiste de um único sorotipo que possui propriedades morfológicas e físico-químicas típicas deste género. O período de incubação do vírus pode ir de 12 a 36 horas em cordeiros recém-nascidos até três dias em ovinos, bovinos e caprinos. Experimentalmente as infecções são notáveis após 12 horas em cordeiros recém-nascidos e bezerros (OIE, 2019).

3.3 Epidemiologia

3.3.1 Distribuição geográfica

O agente causador da FVR é geralmente encontrado em regiões da África Oriental e Austral, onde ovelhas e bovinos são criados, mas o vírus existe na maior parte da África Subsaariana, incluindo a África Ocidental e Madagáscar (Chevalier *et al.*, 2010).

A primeira epidemia de FVR no Oeste africano foi reportada em 1987 e esteve relacionada com a construção de uma barragem no rio Senegal. A distribuição dos vectores, as alterações climáticas e a dinâmica do uso da terra modificaram a distribuição temporal e espacial da infecção (Chevalier *et al.*, 2010). Foram registados surtos importantes da FVR no Egipto (1977-1978 e 1993), Mauritânia (1987), Madagáscar (1990-1991), Quênia e Somália (1997) (Zeller *et al.*, 1998; Lebreton *et al.*,

2006;). A FVR foi reconhecida pela primeira vez fora do continente Africano em 2000 com surtos notificados na Arábia Saudita e no Iémen. Os relatórios mais recentes ocorreram no Botswana, na Mauritânia e em Moçambique, em 2014, e nas Comores e na Arábia Saudita, em 2015 (e em anos anteriores) (OIE, 2019).

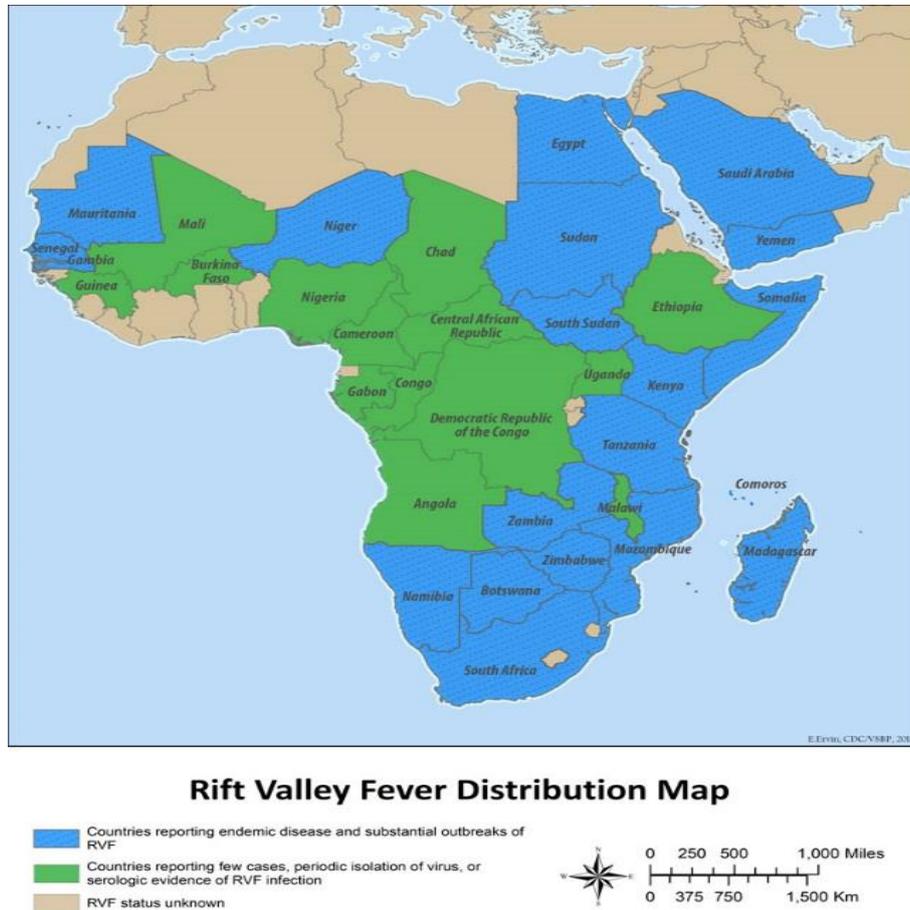


Figura I. Distribuição geográfica da FVR (CDC, 2020)

3.3.2 Espécies afectadas

A FVR afecta ruminantes como ovelhas, cabras e bovinos são os principais hospedeiros primários entre os animais domésticos, embora outras espécies, como camelos, também possam estar envolvidas. O papel da vida selvagem ainda está sendo investigado, mas alguns animais podem disseminar o vírus ou ajudar a mantê-lo durante períodos interepidêmicos. Além do búfalo africano (*Syncerus caffer*), evidências serológicas de infecção foram relatadas em outros ruminantes selvagens, por exemplo, na gazela de Thomson (*Gazella thomsonii*), kudu menor (*Tragelaphus strepsiceros*), impala (*Aepyceros melampus*) e waterbuck (*Kobus ellipsiprymnus*), bem como no rinoceronte preto (*Diceros bicornis*), elefante africano (*Loxodonta africana*) e

javali (*Phacochoerus aethiopicus*) (Spickler, 2015). O vírus afecta também os humanos (Gerdes, 2004; Mariner, 2018).

3.3.3 Transmissão

A FVR é transmitida por mosquitos, que actuam como vectores biológicos (Spickler, 2015). Mais de 30 espécies que pertencem a sete gêneros de mosquitos, são consideradas capazes de transmitir o vírus da FVR (Lefevre *et al.*, 2003; Mcintosh *et al.*, 1981). Do ponto de vista da competência vectorial *Aedes* e *Culex* são considerados os mais importantes em relação aos outros géneros, nomeadamente *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Eretmapodite*, *Mansonia* e *Ochlerotatus*. Em mosquitos, a transmissão transovariana do vírus causador da FVR foi observada em *Aedes mcintoshi*. Esse parece ser um provável fenómeno que ocorre em várias outras espécies (Chevalier *et al.*, 2010).

Durante os períodos de chuvas excepcionalmente intensas, as inundações subsequentes resultam no aumento da população de mosquitos, que podem levar a epizootias da FVR, pelo qual um grande número de animais são infectados. O vírus sobrevive nos ovos secos de mosquitos, e as epidemias estão associadas com a eclosão desses ovos durante anos de fortes chuvas e inundações localizadas (Chevalier *et al.*, 2010).

Os mosquitos alimentam-se de sangue em animais virémicos e em seguida, transmitem o vírus ao se alimentarem do animal. Os humanos podem adquirir o vírus da FVR através do contacto directo com tecidos infectados, vírus aerossolizados gerados em laboratórios ou durante o abate, ou ainda por picada de mosquitos. A importância relativa da exposição transmitida por mosquitos e a tecidos animais infectados continua a ser debatida. A transmissão vertical para bebés humanos foi demonstrada em pelo menos dois casos. A transmissão de pessoa para pessoa não parece ocorrer, porém, o sangue e os tecidos dos pacientes podem ser fontes de exposição para o pessoal médico (Figura II) (Spickler, 2015; Chevalier *et al.*, 2010).

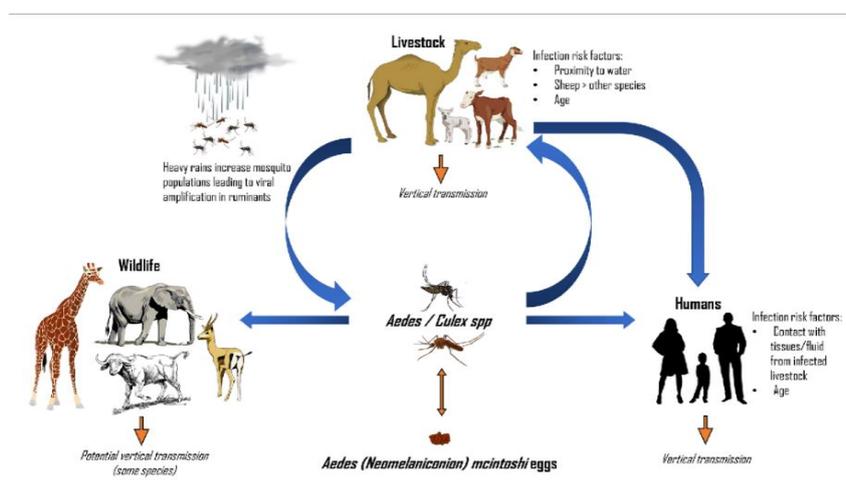


Figura II. Transmissão da FVR (CDC, 2020).

3.4 Sinais clínicos

Os sinais clínicos variam de acordo com a idade e espécie. Em regiões endêmicas, epidemias de FVR podem ser reconhecidas pelas elevadas taxas de mortalidade em animais recém-nascidos e abortos em adultos (CFSPH, 2006).

3.4.1 Ovinos e Caprinos

Os ovinos são a espécie mais suscetível a FVR. Após um curto período de incubação, a febre pode chegar até 41-42 °C. Cordeiros recém-nascidos geralmente morrem dentro de 36 a 40 horas após o início dos sinais (febre bifásica, anorexia e linfadenopatia seguida por fraqueza), e uma taxa de mortalidade de cerca de 95%. Animais mais velhos (duas semanas a três meses de idade) desenvolvem apenas uma infecção mais branda. Em gestantes, abortos são frequentes, variando de 5% a 100%. O vômito pode ser o único sinal clínico apresentado por ovelhas e cordeiros com mais de três meses. No entanto, pode ocorrer febre com depressão, diarreia hemorrágica, secreção nasal mucopurulenta com rajadas de sangue e icterícia. Taxas de letalidade variam entre 20% e 30% (Chevalier *et al.*, 2010).

3.4.2 Bovinos

Os sinais clínicos em bovinos incluem abortos, febre, linfadenite, anorexia, apatia, hemorragia da boca e narinas, cólicas e diarreia hemorrágica. Em alguns casos abortos podem não ser observados e uma queda na taxa de natalidade ser o único sinal reconhecido (Mariner, 2018; Words, 2015).

3.4.3 Humanos

Os sinais clínicos em humanos variam de leves a graves. Após um período de incubação de 2-6 dias, a maioria dos pacientes (98-99%) apresentam sinais de doença leve, semelhante a influenza, com início súbito de febre, dor de cabeça, dores musculares e dor nas articulações. A febre pode durar vários dias, com um período de convalescença variando de alguns dias a um mês. Alguns pacientes apresentam uma febre bifásica, em que ocorre uma redução dos sintomas por volta do terceiro dia. No entanto, estima-se que 1-2% das infecções apresentam sinais mais graves como febre (38-40°C), encefalite e distúrbios neurológicos (alucinações, confusão, vertigens) e doença ocular (fotofobia, uveíte, renite), com altos níveis de mortalidade principalmente em pacientes com outras doenças pré-existentes como a desnutrição (Sumaye *et al.*, 2019; Words, 2015; Wright *et al.*, 2019).

3.5 Métodos de diagnóstico

O diagnóstico correcto da FVR é realizado através da combinação de técnicas laboratoriais, baseadas na história, o propósito do teste e o estágio da suspeita da infecção. A interpretação definitiva dos resultados baseia-se na combinação de sinais clínicos e dados epidemiológicos. Esta doença pode ser diagnosticada pela detecção do vírus no sangue, ou nos tecidos de animais mortos e fetos abortados. Alguns órgãos recomendados para testagem incluem o fígado, baço e cérebro, rins e linfonodos (OIE, 2019; Spickler, 2015).

Durante a fase inicial da doença no sangue e no tecido *post-mortem*, o vírus pode ser detectado através do isolamento do vírus, ELISA de detecção de antígeno e técnicas moleculares como a reacção em cadeia da polimerase (PCR). O teste serológico de detecção de anticorpos o imunoensaio enzimático (ELISA) pode ser usado para confirmar a presença de anticorpos imunoglobulinas M (IgM), que aparecem como uma resposta precoce e transitória, e imunoglobulinas G (IgG), que persistem por vários anos (Spickler, 2015).

O isolamento viral pode ser realizado em camundongos sugadores ou em uma variedade de culturas de células, incluindo: células do rim do macaco verde africano (Vero Cells), rim do criceto (hamster) recém-nascidos (BHK) e células de mosquitos (AP61-*Aedes albopictus*) ou em animais de laboratório (murganhos, ratos de laboratório e cordeiros recém-nascidos) (OIE, 2019).

O vírus neutralização é o teste de referência, altamente específico, porém só pode ser utilizado com o vírus vivo, não sendo recomendado para o uso fora de áreas endémicas ou em laboratórios sem instalações adequadas de biossegurança (laboratórios BSL3 ou 4) e com o pessoal vacinado (OIE, 2019).

As técnicas histopatológicas aplicadas no fígado de animais infectados, permitem a identificação específica do vírus da FVR nos tecidos, sendo uma importante ferramenta de diagnóstico no campo, porque o fígado ou outros tecidos podem ser conservados em solução salina de formol no campo para fins de diagnóstico, o que facilita o manuseamento e transporte para áreas afastadas do laboratório (OIE, 2019).

3.5.1 Princípio do ELISA

No ensaio imunoenzimático (ELISA) comercial ID Screen® FVRV de competição multiespécies, os orifícios da placa são revestidos com uma nucleoproteína recombinante do vírus da Febre do Vale do Rift. As amostras a serem testadas e os

controles são adicionados aos orifícios. Os anticorpos anti-nucleoproteína se presentes formam um complexo anticorpo-antígeno que mascaram os epítomos da nucleoproteína. Se a amostra contiver anticorpos específicos do vírus, eles não permitirão a ligação do Mab (anticorpo monoclonal) marcado ao antígeno, contrariamente se não contiver anticorpos específicos, o Mab irá ligar-se ao antígeno que reveste a placa. Ao lavar a placa para eliminar todo o material não fixado, a presença ou ausência de Mab marcado pode ser detectada pela adição do substrato que na presença da peroxidase, desenvolverá uma reacção colorimétrica. Se houve desenvolvimento de cor, significa que o conjugado se ligou ao antígeno e, portanto, a amostra é negativa. Por outro lado, se a amostra contiver anticorpos específicos para FVRV, estes bloquearão a ligação do conjugado e não haverá desenvolvimento de cor.

3.6 Lesões *post-mortem*

A lesão mais consistente é a necrose hepática que em geral é mais extensa e grave em animais jovens. Em fetos abortados e cordeiros recém-nascidos, o fígado pode estar aumentado, marrom-amarelado a marrom-avermelhado escuro, macio e friável, com manchas irregulares de congestão. Múltiplos focos necróticos branco-acinzentados costumam estar presentes, mas só são visíveis ao microscópio. As lesões do fígado são geralmente menos severas em animais adultos, e podem ser caracterizadas por numerosos focos de necrose de coloração avermelhada a branco-acinzentado (CSFPH, 2006). Outras lesões incluem icterícia, hemorragias cutâneas generalizadas e fluidos nas cavidades corporais. Os gânglios linfáticos periféricos e baço estão tipicamente aumentados e com edema, e muitas vezes contêm petéquias (OIE, 2014).

3.7 Diagnóstico diferencial

o diagnóstico diferencial para FVR, devido a semelhança de sinais clínicos, deve incluir as seguintes patologias: língua azul, doença de Wesselsbron, enterotoxemia dos carneiros, febre efêmera, brucelose, vibriose, tricomoníase, doenças dos ovinos de Nairobi, aborto enzoótico ovino, plantas tóxicas, septicemias, peste bovina e peste dos pequenos ruminantes e antraz (OIE, 2014).

3.8 Tratamento

Não há tratamento específico para seres humanos ou animais, apenas tratamento de suporte em casos de infecção (Chevalier *et al.*, 2010; Nicolas *et al.*, 2013).

3.9 Prevenção e controlo

A vacinação é o método de eleição para prevenir a doença em animais e humanos. Vacinas vivas inactivadas são usadas em ruminantes domésticos. A vacina Smithburn é uma vacina viva atenuada, recomendada para o uso veterinário e é a vacina mais usada contra o vírus da FVR em África (Chevalier *et al.*, 2010). É imunogénica para ovelhas, cabras e vacas, protege os animais contra o aborto, confere imunidade pós-vacinal longa, no entanto, tem um efeito patogénico residual e pode induzir alterações fetais e ou causar aborto em ruminantes e é também patogénico para o homem (síndrome febril) (Chevalier *et al.*, 2010).

A vacina inactivada da FVR proporciona um menor nível de protecção e a sua produção é mais cara. Além disso, requer pelo menos duas vacinas e doses de reforço frequentes para induzir o nível desejado de imunidade, tornando-a imprópria em países onde os ruminantes pastoreiam de forma nómadas (Chevalier *et al.*, 2010).

Outras medidas preventivas incluem, a restrição de circulação de animais de áreas infectadas para áreas não infectadas particularmente nos períodos de maior ocorrência de surtos notificados, uso de repelentes em caso de surtos e o estabelecimento de um sistema de vigilância epidemiológica activa para a detecção de novos casos em animais, de modo a fornecer alerta precoce às autoridades em saúde pública veterinária e humana (Chevalier *et al.*, 2010; Mariner, 2018).

4.2 Determinação do tamanho da amostra

O censo de gado do distrito de Matutuíne era desconhecido, assim sendo, para a determinação do tamanho mínimo da amostra de bovinos a ser amostrada foi usada a seguinte fórmula:

$$n = \frac{Z^2 * p * q}{L^2} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

n = tamanho necessário da amostra

Z = nível de confiança (n=95%, 1,96)

p = prevalência esperada (50%)

q = prevalência complementar

L = precisão ou erro admitido (50%)

A fórmula acima mencionada, determinou um tamanho de amostras de 384 para serem incluídas no trabalho.

4.3 Colheita de amostras de sangue

Foram colhidas amostras de fêmeas e machos, categorizados em vitelos, novilhos e adultos. Usando um equipamento de protecção pessoal (botas de borracha, fato de campo e luvas), foram colhidas em média 2mL de sangue por punção da veia coccígea com uma agulha 23G e tubos contendo gel separador de soro (VACUETTE® 5ml SERUM separador Activador Clot Acrivador, Greinner Bio-One, Estados Unidos, Ref 456018P) (Figura IV). As amostras foram acondicionadas em uma caixa térmica com gelo e transportadas ao Centro de Biotecnologia (Figura V). No total foram colhidas n = 491 amostras de soro.



Figura IV. Colheita de Sangue na veia coccígea de um bovino (Fonte: arquivo pessoal).



Figura IV. Acondicionamento das amostras na caixa térmica (Fonte: arquivo pessoal).

4.4 Preparação dos soros

No Centro de Biotecnologia as amostras foram centrifugadas a 1000 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos para a separação do soro. Numa cabine de protecção o soro já separado foi transferido para o tubo *ependorf* previamente identificado e conservado a -20°C até ao seu uso.

4.5 Diagnóstico laboratorial

O soro foi usado para a detecção de anticorpos específicos anti-VFVR usando o ensaio imunoenzimático (ELISA) comercial ID Screen® FVRV de competição multiespécies ID-VET, Montpellier, França (Figura VI). Este teste detecta anticorpos IgM e IgG no soro ou plasma de animais infectados.



Figura V. Kit ELISA ID.VET Screen®

4.5.1 Procedimento do teste

O kit contém: microplacas revestidas com uma proteína recombinante, conjugado Anti-FVR-NP-Po (10X), controlo positivo e negativo, solução tampão 19, concentrado de lavagem (20X), substrato e solução de paragem.

O teste foi realizado seguindo as instruções do fabricante, resumidamente: foram adicionados a uma microplaca 50µL de solução tampão 19 em cada orifício, 50µL de controlo positivo nos orifícios A1 e B1, 50µL de controlo negativo nos orifícios C1 e D1 e 50µL de cada amostra restantes orifícios. Em seguida a placa foi incubada a 37°C durante 1h. Após esse período foram esvaziados e lavados três vezes com 300µL cada orifício com solução de lavagem. Em seguida foram adicionados 100µL do conjugado Anti-FVR-NP-Po 10x diluído na proporção 1/10 com a solução tampão 19, seguido de uma incubação a 21°C durante 30 min. Efetuou-se de seguida a segunda lavagem da microplaca, adicionou-se 100µL do substrato e incubou-se a 21°C durante 15 min no escuro e por fim adicionou-se 100µL da solução de paragem (Figura VII)

seguida da leitura da microplaca (Elx800, Biotek, Espanha) a 450nm e registo das densidades ópticas (Figura VIII).

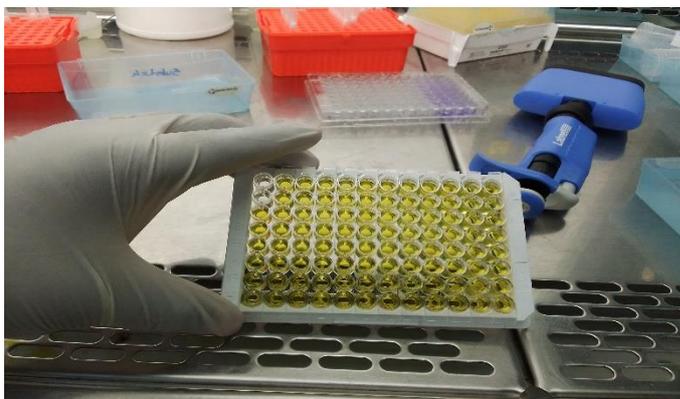


Figura VII. Placa ELISA depois da adição da solução de paragem (Fonte: Arquivo pessoal).

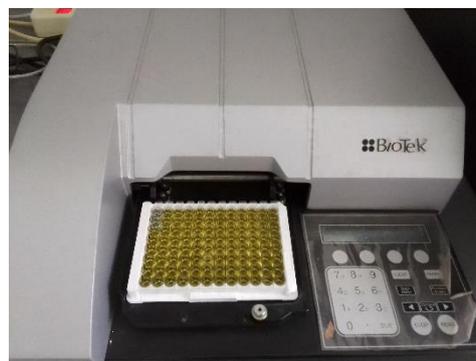


Figura VII. Leitor Biotek da Placa ELISA (Fonte: arquivo pessoal).

4.5.2 Validação dos resultados

Os resultados foram validados segundo os critérios estabelecidos pelo fabricante, ou seja:

- Quando o valor médio da densidade óptica dos controlos negativos (ODNC) foi superior a 0.7. ($ODNC > 0.7$) consideraram-se validados os resultados negativos da placa.
- Quando o valor médio do controlo positivo (ODPC) foi inferior a 30% do ODNC ($ODPC / ODNC < 0,3$) consideraram-se validados os resultados positivos da placa.

Foi calculada para cada amostra a percentagem de competição (S/N%) usando a seguinte fórmula.

$$S/N\% = \frac{OD_{sample}}{ODNC} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Amostras apresentando S/N%:

- Menores ou iguais a 40% foram consideradas positivos;
- Maiores que 40% e menores ou iguais a 50% foram consideradas duvidosas;
- Mais de 50% foram considerados negativos;

Tabela 1. Interpretação de resultados

Resultados	Interpretação
S/N% ≤ 40%	Positivo
40% <S/N% ≤ 50%	Duvidoso
S/N% > 50%	Negativo

4.6 Análise de dados

Os resultados dos testes foram inseridos numa base de dados criada no programa Excel® (Microsoft corporation®, Washington – EUA, 2015), apresentados em codificação binária, sendo o “1” para positivos e “0” aos negativos. A partir dos resultados do ELISA, determinou-se a prevalências segundo a equação (3) proposta por Brauer *et al.*, (2019).

$$\textit{Prevalência} = \frac{\textit{número de amostras positivas}}{\textit{número total de amostras examinadas}} * 100 \quad \textit{Equação 3}$$

Aplicou-se a estatística descritiva para caracterização da prevalência a nível global, de cada localidade, por categoria e sexo com intervalo de confiança (IC) de 95%. A avaliação da associação da ocorrência de anticorpos contra o vírus da FVR entre os factores de risco localidade, sexo e categoria animal executada no software STATA 13.0 (Statistics and Data Science, USA, 2022) foi feita usando a regressão logística para avaliar as diferentes variáveis.

5. RESULTADOS

Foram colhidas 491 amostras de soro, nas localidades: de Gala (n = 169), Salamanga (n = 86), Matcia (n = 29), Tinonganine (n = 17), Macassane (n = 45), Futi (n = 60), Guengo (n = 38) e Zitundo (n = 47).

Seroprevalência da Febre do Vale do Rift no distrito de Matutuíne, por localidade

A seroprevalência global foi de 31,9% (157/484; IC 95%: 27,9 – 36,3). Guengo foi a localidade com a maior seroprevalência 47,4% (18/38; IC 95%: 30,9 – 64,2) a menor seroprevalência foi observada na localidade de Matchia com 20,7 % (6/29; IC 95%: 7,9 – 39,7) como ilustra a tabela 2.

Tabela 2. Seroprevalência da Febre do Vale do Rift no distrito de Matutuíne, por localidade

Localidade	Amostras colhidas	Amostras positivas	Seroprevalência %	IC (95%)
Gala	169	49	28,9	22,3 – 36,5
Salamanga	86	24	27,9	18,8 – 38,6
Tinonganine	17	7	41,2	18,4 – 67,1
Macassane	45	11	24,4	12,9 – 39,5
Zitundo	47	16	34,0	20,9 – 49,3
Futi	60	26	43,3	30,6 – 56,8
Guengo	38	18	47,4	30,9 – 64,2
Matchia	29	6	20,7	7,9 – 39,7
Total	491	157	31,9	27,9 – 36,3

Seroprevalência da FVR por categoria animal

Foram testadas 491 amostras de bovinos, onde 21% eram machos e 79% eram fêmeas. Maior prevalência foi observada em machos adultos com uma prevalência de 36,9% e fêmeas adultas com 35,5% (Tabela 3).

Tabela 3. Seroprevalência da FVR por categoria animal.

Faixa etária	Sexo	Amostras Colhidas	Amostras Positivas	Percentagem de positivos %
Vitelo	Fêmea	19	3	15,8
	Macho	8	1	12,5
Novilho	Fêmea	55	14	25,5
	Macho	30	8	26,7
Adulto	Fêmea	314	107	34,1
	Macho	65	24	36,9

Avaliação estatística da associação da ocorrência de anticorpos contra o VFVR com a localização, categoria e sexo

A prevalência global foi estimada em 31,9% (IC: 27,9 – 36,3). Foi verificada uma associação estatisticamente significativa ($p = 0,013$) em adultos no resultado positivo, mostrando que adultos tem (odds ratio = 4,47) maiores chances de estar infectados comparado aos vitelos. Foi também observada uma diferença estatisticamente significativa ($P=0.025$) entre localidades mostrando que Guengo tem (odds ratio = 3,60) chances de ter mais incidência de casos comparado a Matchia (Tabela 4).

Tabela 4. Avaliação estatística da associação da ocorrência de anticorpos contra o vírus da FVR com a localização, categoria e sexo.

Variável		Nº de amostras	Nº de positivos	Odds Ratio	IC 95%	P
Sexo	Macho	103	33	-	-	-
	Fêmea	388	124	0,82	0,50 – 1,34	0,434
Categoria	Vitelo	27	4	-	-	-
	Novilho	84	22	2,87	0,81 – 10,1	0,100
	Adulto	379	131	4,47	1,36 – 14,62	0,013
Localidade	Matchia	29	6	-	-	-
	Salamanga	86	24	1,45	0,52 – 4,06	0,469
	Gala	169	49	1,71	0,64 – 4,51	0,277
	Zitundo	47	16	3,07	0,98 – 9,62	0,053
	Tinonganine	17	7	3,07	0,80 – 11,7	0,101
	Macassane	45	11	1,25	0,40 – 3,90	0,695
	Futi	60	26	2,77	0,97 – 7,90	0,056
	Guengo	38	18	3,60	1,17 – 11,02	0,025

6. DISCUSSÃO

Os resultados das amostras colhidas e testadas pelo teste serológico ELISA no distrito de Matutuíne, demonstraram evidências serológicas da circulação do vírus da FVR nas populações de gado bovino da região.

O estudo demonstrou um alto nível de circulação do vírus da FVR em bovinos no distrito de Matutuíne, sendo que a seroprevalência observada foi de 31,9% (IC: 27,9 – 36,3) é alta comparada a seroprevalência de 19,8% verificada em 2011 no distrito de Matutuíne (Lagerqvist *et al.*, 2013) e 29,2% reportada em estudos publicados em 2017 (Moiane *et al.*, 2017). Porém esta diferença pode ser devida a diferenças na precipitação pois, actualmente devido as mudanças climáticas os níveis de precipitação têm sido elevados em quase todo o mundo e com tendência a inundações, condições propícias para a ocorrência do vector transmissor da FVR.

Altos níveis de seroprevalência foram verificados nas localidades de Guengo, Futi e Tinonganine com 47,4% (IC: 30,9 – 64,2), 43,3% (IC: 30,6 – 56,8) e 41,2% (18,4 – 67,1) respectivamente. O tamanho da amostra foi diferente entre as localidades tendo influenciado o resultado. Altos níveis de seroprevalência de anticorpos contra vírus da FVR em bovinos no distrito de Matutuíne indicam a circulação viral, mesmo sem relatos de sinais clínicos, indicando que o vírus da FVR pode ser um grande problema para a produção animal, justificando assim a necessidade de uma investigação minuciosa da epidemiologia do distrito.

O presente estudo também mostrou que a seroprevalência do vírus causador da FVR diferiu entre as localidades, dentro do distrito. A razão da seroprevalência diferir entre as localidades provavelmente pode ser devido a localização (proximidade a Reserva Especial de Maputo) e a características agroecológicas do distrito (fontes de águas naturais como rios e lagoas, grandes planícies e precipitação alta) que são factores que podem estar associadas a circulação e multiplicação de vectores.

As localidades escolhidas para realização do presente trabalho, reúnem as condições referidas pela literatura como factores de risco para a ocorrência do vírus da FVR, nomeadamente, vastas planície, criação de gado caprino ovino e bovino que são hospedeiros primários e principais multiplicadores do vírus da FVR (Chevalier *et al.*, 2010; Mondet *et al.*, 2005; Soumare *et al.*, 2007). E por outro lado as localidades avaliadas são atravessadas pelos rios Futi e o Maputo e as lagoas Piti, Xinguti e Munde. Os sistemas de pântanos, ribeirinhos e estuarinos fornecem um habitat especial para várias comunidades de espécies selvagens e domésticas. Possui

também um vasto leito de ervas marinhas, mangais, higrófilas salinas e de água doce, pastagens, juncos e canteiros, bem como florestas pantanosas, ambiente propício para a ocorrência do vector da FVR,

Outros estudos também relataram uma alta seroprevalência em regiões áridas e baixa seroprevalência em regiões tropicais (Davies, 2006), e isso é consistente com achados que indicam uma relação entre o momento e a localização das epidemias de FVR e os indicadores climáticos (Linthicum *et al.*, 1999). A transmissão do vírus da FVR está intimamente relacionada a eventos de inundação e também pode ser generalizada durante períodos de chuvas intensas (Lebreton *et al.*, 2006; Labeaud *et al.*, 2008).

Alguns ruminantes selvagens são referidos como reservatório para o vírus da FVR como é caso do búfalo africano (*Syncerus caffer*), que pode ser encontrado na Reserva Especial de Maputo. Uma característica importante de produtores localizados na zona tampão (Salamanga e Zitundo) do distrito de Matutuíne é o uso da mesma área para o pastoreio de gado, resultando no contacto entre gado doméstico e animais selvagens favorecendo o risco de infecção do gado doméstico assim como do homem. Os animais das localidades amostradas pastam nas zonas circunvizinhas da Reserva Especial de Maputo, tornando-se também um factor de risco para a transmissão da doença de animais selvagens para os domésticos.

No presente estudo, a maior seroprevalência foi registada em animais adultos, e achados semelhantes foram relatados em estudos realizados na Zambézia (Anne-Lie Blomström *et al.*, 2016), no Chade (Ringot *et al.*, 2004), Somália (Soumare *et al.*, 2007) e Madagáscar (Zeller *et al.*, 1998). Foi verificada uma associação estatisticamente significativa ($p = 0,013$) em adultos no resultado positivo, mostrando que adultos têm (odds ratio = 4,47) maiores possibilidades de estar infectados quando comparado aos vitelos. A probabilidade de infeção é elevada em animais adultos que os jovens, pois a susceptibilidade aumenta com a maturidade sexual e pelo facto de estes estarem expostos a factores de risco por um período mais longo comparado aos outros como referiram Chevalier *et al.*, (2010) e Davies (2006).

O sistema de produção pode influenciar o risco de infecção pelo vírus da FVR. As explorações visitadas são de sistemas extensivos, de famílias humildes, sem relatórios de importação de animais.

Os resultados encontrados neste estudo podem ser um reflexo do aumento da circulação do vírus pelo distrito de Matutuíne, embora a modalidade desta circulação seja desconhecida. A infecção pelo vírus da FVR pode passar despercebida em

animais adultos, mas pode causar abortos e morte neonatal em pequenos ruminantes (Ikegami *et al.*, 2011) o que tem grandes consequências económicas.

O aumento da precipitação que se tem verificado nos últimos 5 anos na zona sul do país, pode ter resultado no surgimento de casos positivos no distrito de Matutuíne. Surtos da FVR ocorrem em populações com baixa imunidade e em locais com mudanças hidrológicas, como épocas chuvosas prolongadas (OIE, 2019).

Estudos de isolamento/detecção do vírus e levantamentos entomológicos são necessários para entender melhor esses altos níveis de seroprevalência. Apesar da ausência de surtos de FVR notificados oficialmente no distrito de Matutuíne, as autoridades veterinárias nacionais precisam desenvolver estratégias para a detecção, prevenção e controlo de FVR.

7. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo sugerem a circulação do vírus da FVR nas localidades amostradas, sugerindo que a FVR circula entre os bovinos do distrito de Matutuíne. A localização das farmas e a idade dos animais foram os principais factores associados as chances de exposição ao vírus da FVR. Os dados colhidos neste trabalho recomendam a necessidade do estabelecimento de um programa de vigilância da FVR mais activo.

8. RECOMENDAÇÕES

- Realizar um estudo capaz de abranger todas localidades do distrito de Matutuíne;
- Realizar mais estudos para a identificação dos principais factores de risco associados a ocorrência da FVR;
- Realizar estudos referentes a epidemiologia molecular da FVR de modo a saber os diferentes tipos de genótipos que ocorrem no distrito;
- Reforçar a vigilância para evitar a ocorrência de surtos;
- Alertar os criadores sobre a existência da doença de modo que possam prevenir de surtos.
- Assim, considera-se importante fazer o mapeamento da FVR no distrito de Matutuíne para a detecção precoce da epidemia, ocorrência de doenças e prevenção da transmissão aos animais e também aos seres humanos.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2015). **Imunologia celular e molecular** (8a ed.). Rio de Janeiro: Elsevier.
- Blomström, A.-L., Scharin, I., Stenberg, H., Figueiredo, J., Nhambirre, O., Abilio, A., Berg, M., & Fafetine, J. (2016). **Seroprevalence of Rift Valley fever virus in sheep and goats in Zambézia, Mozambique**. *Infection Ecology & Epidemiology*, 6(1), 31343. <https://doi.org/10.3402/iee.v6.31343>
- Archer, B. N., Thomas, J., Weyer, J. (2013). **Epidemiologic investigations into outbreaks of Rift valley fever in humans, South Africa, 2008–2011**. *Emerging Infectious Diseases*, 19(12), 1918–1925.
- Archer, B. N., Weyer, J., Paweska, J. (2011). **Outbreak of Rift Valley fever affecting veterinarians and farmers in South Africa, 2008**. *South African Medical Journal*, 101(4), 263–266.
- Moiane, B., Mapaco, L., Thompson, P., Berg, M., Albihn, A., & Fafetine, J. (2017). **High seroprevalence of Rift Valley fever phlebovirus in domestic ruminants and African Buffaloes in Mozambique shows need for intensified surveillance**. *Infection Ecology & Epidemiology*, 7(1), 1416248. <https://doi.org/10.1080/20008686.2017.1416248>
- Boushab, B. M., Fall-Malick, F. Z., Ould Baba, S. E. W. (2016). **Severe human illness caused by Rift Valley Fever virus in Mauritania, 2015**. *Open Forum Infectious Diseases*, 3(4), ofw200.
- Center for Food Security and Public Health - CFSPH. (2006). **Infectious Enzootic Hepatitis of Sheep and Cattle: Rift Valley Fever**. Disponível em: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/rift_valley_fever.pdf
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Rift Valley Fever (RVF): outbreaks summary**. (2017). Disponível em: <https://www.cdc.gov/vhf/rvf/outbreaks/summaries.html>
- Chevalier, V., Pépin, M., Plée, L., & Lancelot, R. (2010). **Rift Valley fever - a threat for Europe?**. *EuroSurveillance*, 15(10), pii=19506.
- Daubney, R., Hudson, J. R., & Garnham, P. C. (1931). **Hepatite enzoótica ou febre do Vale do Rift: um vírus não descrito de ovelhas, gado e homem da África Oriental**. *Jornal de Patologia e Bacteriologia*, 34, 545-579.

Davies, F. G. (2006). **Risk of Rift Valley fever epidemic at the Haj in Mecca, Saudi Arabia**. *Revista de Ciência e Tecnologia*, 25(1), 137-147. doi: 10.20506/rst.25.1.1648. PMID: 16796043.

De Paula, E. M. N., Cruz, C. A., Sousa, D. B., & Bartoli, R. B. (2015). **Aspectos Clínicos e Epidemiológicos da Febre do Vale do Rift**. *Revista Investigação*, 14(6), 91-95.

Fafetine, J. M., Coetzee, P., Mubemba, B., Nhambirre, O., Neves, L., Venter, E. H. (2016). **Rift Valley fever outbreak in livestock, Mozambique, 2014**. *Emerging Infectious Diseases*, 22(12), 2165–2167.

Fafetine, J., Neves, L., Thompson, P. N., Paweska, J. T., Rutten, V. P. M. G., & Coetzer, J. A. W. (2013). **Serological evidence of Rift Valley fever virus circulation in sheep and goats in Zambézia Province, Mozambique**. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7, e2065. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002065>

Fauquet, C. M., Mayo, M. A., Maniloff, J., Desselber, U., & Ball, L. A. (2005). **Family Bunyaviridae**. In: *Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses* (p. 695-716). San Diego: Elsevier Academic Press.

Gerdes, G. H. (2004). **Rift Valley Fever**. *Revista de Ciência e Tecnologia da OIE*, 23, 613–623.

Ikegami, T. (2012). **Molecular biology and genetic diversity of Rift Valley fever virus**. *Antiviral Research*, 95, 293-310.

Labeaude, A. D., Ochiai, Y., Peters, C. J., Muchiri, E. M., & King, C. H. (2007). **Spectrum of Rift Valley Fever Virus Transmission In Kenya: Insights From Three Distinct Regions**. Volume 76, número 5.

Lagerqvist, N., Moiane, B., & Mapaco, L. (2013). **Antibodies against Rift Valley fever virus in cattle, Mozambique**. *Emerging Infectious Diseases*, 19(7), 1177–1179.

Lagerqvist, N., Moiane, B., Bucht, G., Fafetine, J., Paweska, J. T., & Lundkvist, A. (2012). **Estabilidade de uma vacina contra a febre do Vale do Rift inativada com formalina: avaliação de uma campanha de vacinação para bovinos em Moçambique**. *Vacina*, 30, 6534–40. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.08.052>

Linthicum, K. J., Anyamba, A., Tucker, C. J., Kelley, P. W., Myers, M. F., & Peters, C. J. (1999). **Climate and satellite indicators to forecast Rift Valley fever epidemics in Kenya**. *Science*, 285(5426), 397–400.

Mariner, J. (2018). **Rift Valley Fever Surveillance**. **FAO Animal Production and Health Manual** No. 21. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

Métrás, R., Porphyre, T., & Pfeiffer, D. U. (2012). **Exploratory space-time analyses of Rift Valley Fever in South Africa in 2008–2011**. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 6(8), e1808.

Monaco, F., Pinoni, C., Cosseddu, G. M., et al. (2013). **Rift Valley Fever in Namibia, 2010**. *Emerging Infectious Diseases*, 19(12), 2025–2027.

Mondet, B., Diaïté, A., Ndione, J. A., Fall, A. G., Chevalier, V., Lancelot, R., Ndiaye, M., Ponçon, N. (2005). **Rainfall patterns and population dynamics of *Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis*, Patton 1905 (Diptera: Culicidae), a potential vector of Rift Valley fever virus in Senegal**. *Journal of Vector Ecology*, 30(1), 102-106. PMID: 16007962

Nicolas, G., Eur, D., Montpellier, D. E. L. U. (2003). **Diffusion de la Vallée du Rift par les mouvements de bovins: modélisation de la circulation virale dans un écosystème tempéré et montagneux, l'exemple de Madagascar**.

Paweska, J. T. (2015). **Rift Valley fever**. *OIE Revue Scientifique et Technique*, v. 34, n. 2. Disponível em <https://doi.org/10.20506/rst.34.2.2364>

Portal do Governo da Província de Maputo. (2017). Disponível em <https://www.pmaputo.gov.mz/por/A-Provincia/Perfis-Distritais/Matutuine>

Ringot, D., Durand, J. P., Toulou, H., Boutin, J. P., & Davoust, B. (2004). **Rift Valley fever in Chad**. *Emerging Infectious Diseases*, 10(5), 945-947. doi: 10.3201/eid1005.030621. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3323222/>

OIE (Organização Mundial de Saúde Animal). **Rift Valley fever, Mauritânia**. (2014). Disponível em: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review/viewsummary?reportid=14258

Spickler, A. R. (2015). **Febre do Vale do Rift**.

Soumare, B., Tempia, S., Cagnoli, V., Mouhamoud, A., & Van Huylenbroeck, G. (2007). **Screening for Rift Valley Fever Outbreak**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 955-959.

- Sow, A., Faye, O., Ba, Y. (2014). **Rift Valley fever outbreak, southern Mauritania, 2012**. *Emerging Infectious Diseases*, 20(2), 296–299.
- Sumaye, R., Jansen, F., Berkvens, D., Baets, B. De, Guebels, E., Thiry, E., & M.K., I.D. (2019). **Rift Valley Fever: An open source transmission dynamics simulation model** (pp. 1–27).
- Swanepoel, R. (2004). J. R., Griffiths, P. D., Schoub, B. Zuckerman, A. J., Banatvala, J. E. **Bunyaviridae**. In: **Principles and Practice of Clinical Virology** (5^a ed.). England: John Wiley & Sons Ltd., p. 554-588.
- Thrusfield, M. (2004). **Epidemiologia Veterinária** (2a ed.). [Tradução, Elizabeth Oliveira da Costa Freitas Guimaraes]. São Paulo: Roca.
- Valadão, F. G. (1969). **Previous note on the occurrence of a new virus disease in Mozambique - The Rift Valley fever**. *Veterinária, Moçambique, Lourenço Marques*, 2(1), 13–20.
- ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses). (2017). *Virus Taxonomy*. Recuperado de <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
- WHO (World Health Organization). (2010). Fact sheet n.º207. Rift Valley fever (2010). Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs207/en/print.html>
- Words, K. (2015). **Interplay between the virus and Host in Rift Valley Fever Pathogenesis** (pp. 450–458). Disponível em <https://doi.org/10.1159/000373924>
- World Organisation for Animal Health. (2014). Rift Valley Fever. Disponível em http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.14_FVR.pdf
- World Health Organization. (2007). **Outbreaks of Rift Valley fever in Kenya, Somalia and United Republic of Tanzania, December 2006–April 2007**. *Wkly Epidemiol Rec*, 82, 16978.
- World Health Organization. (2010). **Rift Valley fever, South Africa—update 1**. *Wkly Epidemiol Rec*, 21, 185–186.
- Wright, D., Kortekaas, J., Bowden, T. A., Warimwe, G. M. (2019). **Rift Valley Fever: biology and epidemiology**. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/igv.0.001296>
- Zeller, H. G., Bessin, R., Thiongane, Y., Bapetel, I., Teou, K., Ala, M. G., Atse, A. N., Sylla, R., Digoutte, J. P., & Akakpo, A. J. (1995). **Prevalência de anticorpos da febre do Vale do Rift em ungulados domésticos em Camarões e vários países da**

África Ocidental (1989–1992) após o surto de 1987 na Mauritânia. Research in Virology, 146(1), 81-85.