

Workshop Febre Hemorrágica da Crimeia e do Congo

5 março 2026

Sílvia Barros, Investigadora Sénior do INIAV (BSc, PhD)

Margarida Duarte, Investigadora Sénior do INIAV (DVM, MSc, PhD)

Objetivo

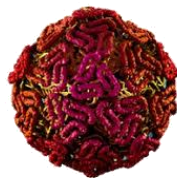
Crimean-Congo Fever (CCHF) (at risk) – to detect the first introduction of the agent in a specific risk area and promote preventive actions in humans and animals;



Co-funded by
the European Union

Projeto: 101132818 — SIVIZ — EU4H-2022-DGA-MS-IBA3 *Development of an Integrated Surveillance and Alert System of Zoonosis in Portugal* (AWP Ref: CP-g-22-04.01)

1

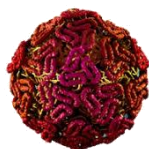


Tópicos abordados

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão
2. Fatores de risco
3. Diagnóstico da Febre da Crimeia e do Congo em animais
4. Resultados SIVIZ
5. Resultados de estudo serológico em ruminantes e de vigilância em carraças em contexto veterinário

2

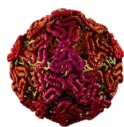
1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. Etiologia



- Vírus da Febre Hemorrágica da Crimeia e do Congo
- Família *Nairoviridae*, género *Orthonairovirus*
- ssRNA, 3 segmentos (S, M e L), ~19 kb
- Reconhecidas 8 linhagens/genótipos distintos

3

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. Vetores



carraças duras da família Ixodidae, sobretudo do **género *Hyalomma***:

H. marginatum (EU);
H. anatolicum (MO, Ásia);
H. lusitanicum (PT & SP).

géneros *Rhipicephalus* e *Dermacentor*: encontradas infetadas, mas com papel epidemiológico secundário.

Hyalomma marginatum



Hyalomma lusitanicum



Rhipicephalus



Dermacentor



4

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. Vetores



Carraças: reservatório ecológico primário e vetor

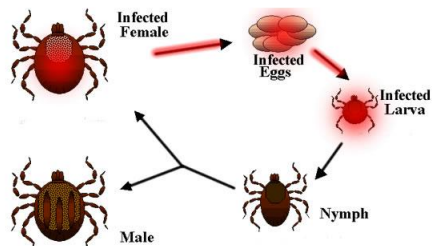
- atuam simultaneamente como **vetores e reservatórios** de longo prazo do CCHFV
- possibilitam a sobrevivência do vírus mesmo na ausência de um hospedeiro vertebrado com virêmia.

5

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. Vias de transmissão endógena (intra-vetorial)

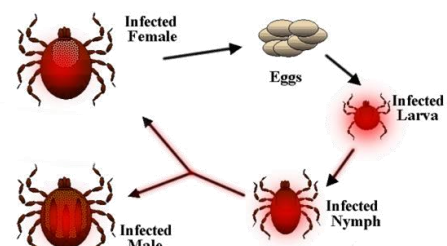
Vias de transmissão nas carraças

Transmissão transovárica (fêmea → ovos)



Transovarial transmission

Transmissão transtádial (larva → ninfa → adulto)



Transstadial transmission

6

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. Papel das Carraças



Persistência: vírus sobrevive ao processo de muda (ecdise). Larva ou ninfa que adquirem o vírus durante a refeição sanguínea podem transmiti-lo ao hospedeiro no estágio seguinte (ninfa ou adulto).



Capacidade vetorial: carraças infectadas podem manter-se infecciosas por períodos prolongados de jejum (>10 meses), mesmo durante a hibernação.



Eficiência de transmissão: A transmissão transestadial é altamente eficiente. Em *Hyalomma marginatum*, por exemplo, ninfas que adquiriram o vírus podem permanecer positivas até ao estágio adulto.

Alterações genéticas: NGS demonstrou que podem ocorrer mutações não-sinónimas no genoma do CCHFV após uma única transmissão transestadial na carraça (o vírus sofre alterações genéticas enquanto persiste durante o processo de muda).

Títulos virais: os títulos em carraças adultas recém-mudas são comparáveis aos títulos em carraças com um ano de idade, evidenciando manutenção estável da infeção.

7

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. Hospedeiros amplificadores vertebrados: ruminantes domésticos e ungulados silvestres



Ruminantes domésticos (Bovinos, Ovinos e Caprinos)

- Desenvolvem virémia transitória ($\approx$ 3–7 dias; 15 dias)
- Essenciais para amplificação e infeção de carraças
- Relevantes em contexto ocupacional (abate, manejo)



Fauna silvestre (Cervídeos, lebres)

- Importantes na manutenção ecológica em áreas endémicas
- Associados à presença de *Hyalomma*



Outros vertebrados (aves terrestres e pequenos mamíferos como roedores com papel variável e dependente da região)

- podem transportar carraças infectadas (dispersão geográfica), embora geralmente não desenvolvam virémia significativa

8

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. Sinais clínicos nos ruminantes



A infeção é geralmente **assintomática**

- Infeções inaparentes;
- Virémias transitórias (até 15 dias);
- Desenvolvimento de Ac.

Quando presentes, os sinais clínicos mais comuns são:

- Febre transiente e leve;
- Letargia e anorexia;
- Dispneia;
- Edema em várias partes do corpo;
- Hipogalactia

Ausentes sinais hemorrágicos graves

9

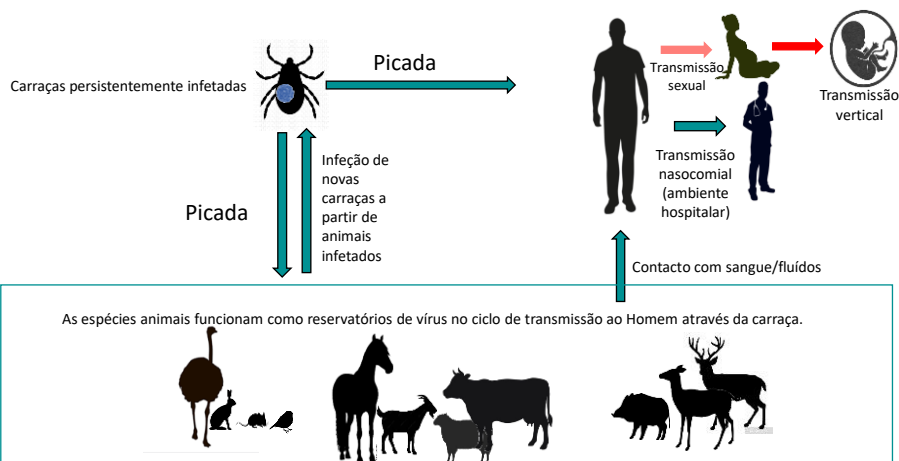
1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. Transmissão a vertebrados

É através da picada de carraças infectadas que ocorre geralmente a transmissão do CCHFV para humanos.

Transmissão ao homem é comum em áreas rurais e de produção pecuária.

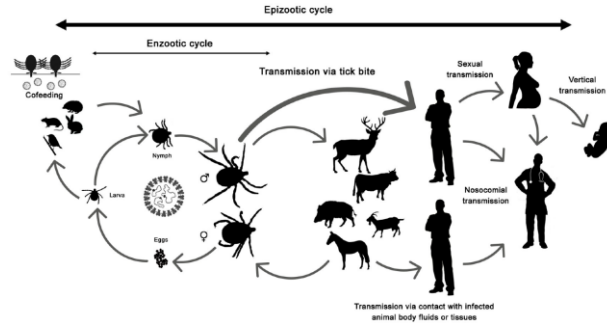
A carraça permanece infectada toda a sua vida.

A transmissão também pode ocorrer por contato com sangue ou fluidos corporais de animais infectados.



10

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. Ciclo de transmissão



Escala
Hospedeiros
Ambiente
Foco
Risco Humano

Ciclo Enzootico

Silvestre, baixa prevalência, constante
Pequenos mamíferos, aves silvestres
Áreas rurais/silvestres naturais
Manutenção do vírus
Baixo/Esporádico

Ciclo Epizootico

Surtos, alta incidência em rebanhos
Gado, ovelhas, cabras, avestruzes
Explorações, matadouros, pastagens
Amplificação do vírus
Alto (contato com sangue/tecidos. Precede surtos)

11

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão. CCHFV em Portugal: reservatórios e ciclo ecológico

Vetor-chave

• *Hyalomma lusitanicum*

Principal espécie implicada na circulação do CCHFV na Península Ibérica.

Muito associada a cervídeos e a sistemas extensivos do Alentejo e interior centro/sul.

Principais vertebrados envolvidos em Portugal

1) Cervídeos (fauna silvestre)

- Veado-vermelho (*Cervus elaphus*)
- Gamo (*Dama dama*)
- elevada infestação por *Hyalomma*
- seroprevalências significativas em estudos ibéricos
- Papel central na manutenção ecológica local

2) Bovinos em regime extensivo

• *Bos taurus*

- Desenvolvem viremia curta e assintomática
- Amplificam o vírus para carraças
- Relevantes em risco ocupacional (veterinários, trabalhadores rurais, matadouros)

3) Outros potenciais hospedeiros

- Lebres (*Lepus* spp.) possíveis hospedeiros de fases imaturas
- Ovinos e caprinos; papel amplificador semelhante ao dos bovinos
- Aves: importantes na dispersão de carraças, sobretudo fases imaturas

Enquadramento epidemiológico em Portugal

- Evidência molecular de CCHFV em *Hyalomma lusitanicum* em Espanha
- Casos humanos autóctones reportados na Península Ibérica (Portugal e Espanha).
- Ecossistemas mediterrânicos com:
 - Sistemas agro-silvo-pastoris
 - Alta densidade de cervídeos
 - Clima favorável ao ciclo da carraça

12

2. Fatores de Risco

**áreas onde
existe
circulação
do CCHFV**

Ambiente que proporcione picada por carraças
infetadas

Práticas que promovam o contacto com sangue
ou fluidos de animais infetados

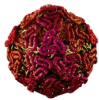
- Produtores pecuários;
- Tratadores de animais;
- Trabalhadores de matadouros
- Médicos Veterinários;
- Caçadores;
- Trabalhadores rurais;

**Comportamentos
de risco em
ambiente
hospitalar**

Profissionais de saúde que tratem de pessoas infetadas pelo CCHFV sem uso
adequado de EPI (equipamento de proteção individual).

13

3. Diagnóstico do vírus da Febre Hemorrágica da Crimeia e do Congo



Diagnóstico serológico

ELISA comercial de duplo antígeno



Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV)

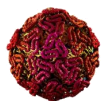
ID Screen® CCHF Double Antigen Multi-species

ELISA Y

Double antigen ELISA for the detection of antibodies
against Crimean-Congo haemorrhagic fever virus
(CCHFV) in cattle, sheep, goats or other susceptible
species, including humans*

14

3. Diagnóstico do vírus da Febre Hemorrágica da Crimeia e do Congo



Diagnóstico serológico confirmatório

Imunofluorescência Indireta

Commercial immunofluorescence biochip (Euroimmun, Lübeck, Germany).

2 antígenos: CCHFV-GPC (precursor da glicoproteína) e CCHFV-N (proteína da nucleocapside)

1 antígeno controlo: EU 90 (control-transfected cells).

Diluição de soros 1:50

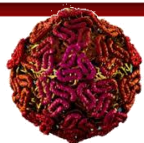
Anticorpo secundário:

Rabbit anti-Bovine IgG (H+L) Secondary Antibody, FITC (Invitrogen, MA, USA)

Rabbit anti-Deer IgG (H+L) Secondary Antibody, FITC (Seracare, MA, USA)

15

3. Diagnóstico do vírus da Febre da Febre Hemorrágica da Crimeia e do Congo



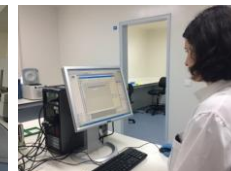
Diagnóstico molecular

Extração automática de ácidos nucleicos (KingFisher, Thermo Scientific)

Técnica de RT-qPCR: Koehler et al.

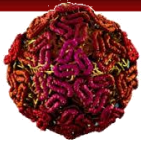
Alvo: gene S

Tempo de resposta: 4 horas



16

3. Diagnóstico do vírus da Febre Hemorrágica da Crimeia e do Congo



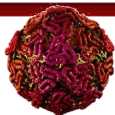
Isolamento viral

Não existe BSL-4 em Portugal



17

3. Diagnóstico do vírus da Febre da Febre Hemorrágica da Crimeia e do Congo



Caracterização molecular (baseada no segmento S / WGS)

Genótipo numérico	Correspondência geográfica aproximada
I	África I
II	África II
III *	África III (Estirpes históricas da África Ocidental, Mauritânia, Península Ibérica)
IV	Ásia I
V	Europa I
VI	Europa II
(VII, VIII)	Ásia II (em classificações mais recentes)

18

4. Resultados do 1º e 2º ano do Projeto SIVIZ



2024

Espécie	Matriz	Nº de amostras positivas/testadas	Nº amostras previstas	Método de Diagnóstico
Bovinos, ovinos e caprinos	Soro	0 / 23	50	ELISA (PE-084)
Veados e Corços	Soro	4 / 19	20	ELISA (PE-084)

2025 (provisório)

Espécie	Matriz	Nº de amostras positivas/testadas	Nº amostras previstas	Método de Diagnóstico
Bovinos, ovinos e caprinos	Soro	2 / 23	50	ELISA (PE-084)
Veados e Corços	Soro	5 / 14	20	ELISA (PE-084)

19

5. Resultados de estudo serológico em ruminantes e de vigilância em
carraças em contexto veterinário

www.nature.com/scientificreports

scientific reports

OPEN Evidence of Crimean–Congo
hemorrhagic fever virus in livestock
and wildlife in Northeastern
Portugal

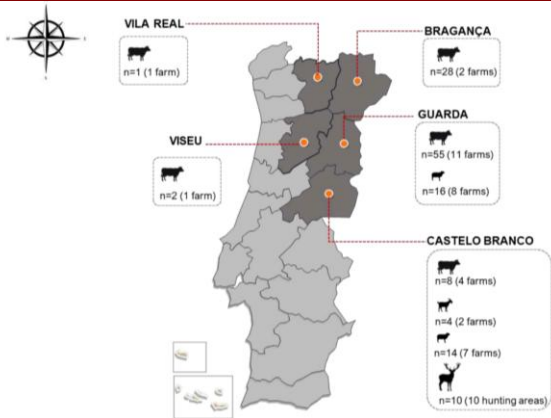
Fábio Abade dos Santos^{1,2,3}, Margarida D. Duarte^{1,2,4,5}, António Caçote⁶,
António Lourenço⁶, Diogo Maroco^{1,7}, Ana Rita Varela^{1,8}, Luís Bonifácio^{1,9}, Miguel Pimpão¹,
Margarida Henriques¹, Ana Duarte^{1,2,4,5} & Sílvia C. Barros^{1,10}

Following the death of an 83-year-old man from the district of Bragança, in north-eastern Portugal due to Crimean–Congo hemorrhagic fever (CCHF), a serological survey was conducted to investigate domestic and wild ruminants. The survey included samples from cattle (n=94), sheep (n=30), goats (n=4), and red deer (n=10) collected within the affected region and neighboring areas where the human case was reported. CCHF antibodies were detected by ELISA in the serum of sheep, cattle and red deer, corresponding to seropositivity rates of 3.33%, 28.29% and 60%, respectively, indicating significant exposure to the virus. Indirect immunofluorescence assays further validated the ELISA results. Most of the positive cattle originate from farms located in the Guarda district, which are located close to the Spanish border. None of the goats was positive for CCHF-antibodies and viral-RNA was not detected in any of the samples. CCHF-RNA was also not detected in 15 ticks from Dermacentor and Rhipicephalus genera collected from vegetation or cattle, on one of the positive farms. Our findings suggest that CCHFV is actively circulating in northeastern Portugal. Reports of human cases of CCHF in Spain, particularly near the border with Portugal, are consistent with the detection of CCHFV-RNA in ticks feeding on domestic and wild animals in western Spain, highlighting the potential for cross-border transmission and suggesting an established circulation of CCHFV in the Iberian Peninsula.

Keywords Crimean–Congo hemorrhagic fever, CCHFV, Cattle, Red deer, Ticks, Seropositivity

20

**5. Resultados de estudo serológico em ruminantes e de vigilância em
carraças em contexto veterinário**



Bovinos (n=94)
Ovinos (n=30)
Caprinos (n=4)
Veados-vermelhos (n=10)

região afetada (ELISA pos) e
em áreas vizinhas onde o
caso humano foi reportado.

21

**5. Resultados de estudo serológico em ruminantes e de vigilância em
carraças em contexto veterinário**

District	No. of Farms/Hunting areas Investigated	No. of Cattle tested Pos/Total (PP%)	No. of Sheep tested (Pos/Total) (PP%)	No. of Goats tested (Pos/Total) (PP%)	No. of Red deer tested (Pos/Total) (PP%)	CCHF-Ab Positive farms/hunting areas
Bragança	2	0/28 0%	0	0	0	0
Castelo Branco	23	2/8 25.0%	1/14 7.14%	0/4 0%	6/10 60%	8
Guarda	19	34/55 61.82%	0/16 0%	0	0	5
Viseu	1	0/2 0%	0	0	0	0
Vila Real	1	0/1 0%	0	0	0	0
Total	46	36/94 38.29%	1/30 3.33%	0/4 0%	6/10 60%	13

PP-percentage of positivity in the sample

Taxas de seropositividade (ELISA)

Ovinos 3,33%

Bovinos* 38,29%

Veados 60%

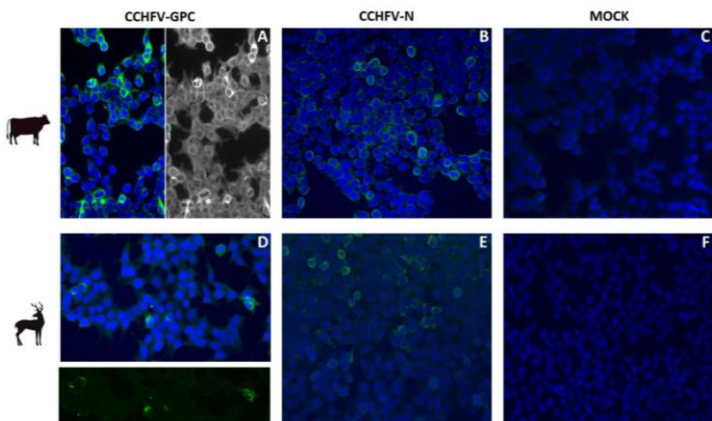
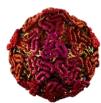
Caprinos 0%

Exposição significativa ao vírus

* Maioria dos bovinos positivos proveniente de explorações localizadas no distrito da **Guarda**, situado próximo da fronteira com Espanha.

22

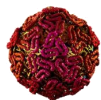
5. Resultados de estudo serológico em ruminantes e de vigilância em carraças em contexto veterinário



Ensaio de imunofluorescência indireta confirmaram os resultados obtidos por ELISA.

23

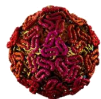
5. Resultados de estudo serológico em ruminantes e de vigilância em carraças em contexto veterinário



15 carraças dos géneros *Dermacentor* e *Rhipicephalus* recolhidas da vegetação ou de bovinos numa das explorações positivas a CCHF-Ab.

24

5. Resultados de estudo serológico em ruminantes e de vigilância em carraças em contexto veterinário

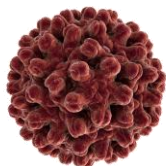


CCHFV está a circular ativamente no leste de Portugal.

Os relatos de casos humanos de CCHF em Espanha, particularmente perto da fronteira com Portugal, são consistentes com a deteção de RNA do CCHFV em carraças que se alimentam de animais domésticos e selvagens no oeste de Espanha

Potencial de transmissão transfronteiriça sugerindo uma **circulação estabelecida do CCHFV na Península Ibérica**.

25



Febre Hemorrágica da Crimeia-Congo

Obrigada pela atenção

26