

Reunião Internacional de Raiva nas Américas (RITA) – Brasil, 2012*

International Rabies Meeting in the Americas (RITA) - Brazil, 2012

Ivanete Kotait

Assistente Técnico de Saúde do Instituto Pasteur

Presidente do Comitê Organizador da XXIII (RITA). Vice-Presidente do Comitê Internacional da RITA

Instituto Pasteur, São Paulo, SP – Brasil



Mesa de abertura da XXIII RITA com representantes de instituições nacionais e internacionais

No período de 14 a 18 de outubro de 2012, ocorreu em São Paulo, no Hotel Macksoud Plaza, a XXIII Reunião Internacional de Raiva nas Américas (RITA). Esse evento contou com a participação de 411 profissionais, de 31 países, de todos os continentes, entre eles os principais pesquisadores das Instituições de Referência para o tema “Raiva”, da Organização Mundial de Saúde e Organização Panamericana de Saúde, além de outras instituições de renome internacional.

Ressalta-se que, entre os brasileiros participantes, havia representantes de todos os Estados da Federação, profissionais dos Ministérios de Saúde e Agricultura, das Secretarias Estaduais de Saúde e Agricultura, das Universidades Federais e Estaduais, do Centro de Controle de Zoonoses, coordenadores estaduais do programa, alunos de pós-graduação e profissionais de laboratórios de diagnóstico.

A RITA vinha sendo realizada anualmente desde 1990, preferencialmente no eixo Estados Unidos, Canadá e México, com raros encontros em outros países das Américas, tais como os de 2000,

no Peru; 2004, na República Dominicana; 2006, no Brasil; e 2011, em Porto Rico.

Como reconhecimento à qualidade da pesquisa científica desenvolvida no Brasil, o Comitê Internacional da RITA, que coordena essa reunião anual, o mais importante fórum mundial de discussão da raiva, e é presidido pelo Dr. Charles E. Rupprecht, sugeriu que o nosso país passasse a coordenar o evento a cada quatro anos, a partir de 2012, e que pesquisadores brasileiros integrassem o Comitê.

A XXIII RITA, como as demais RITAs, teve o apoio financeiro de instituições públicas e privadas, nacionais e internacionais, sendo o Instituto Pasteur, da Coordenadoria de Controle de Doenças, da Secretaria de Estado da Saúde, quem concedeu maior contribuição para a realização do evento. Outras Instituições, como a Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde, a Universidade Estadual Paulista, a Coordenadoria de Defesa Agropecuária da Secretaria da Agricultura e Abastecimento, o Instituto Butantan e a Fapesp também apoiaram a realização da RITA.

A palestra de abertura foi realizada pelo Dr. François Xavier Meslin, da Organização Mundial de Saúde, e tratou do “Controle Regional da Raiva Humana e Canina e perspectivas Globais”.

Uma tradição da RITA é a seleção de um Jovem Pesquisador para receber o Prêmio George Baer, realizada pelo Comitê Internacional, que conta com a participação de três

*Relato de encontro da Reunião Internacional de Raiva nas Américas (RITA) – Brasil, 2012

membros de cada país (Estados Unidos, México, Canadá e Brasil). Esse Jovem Pesquisador deve ser cidadão residente na América Latina, trabalhar em uma Instituição Governamental, de pesquisa ou universidade, ou ser estudante concluindo seu trabalho de licenciatura, mestrado ou doutorado, com apoio ou não de agências externas de investigação. Deve ter, também, menos de cinco anos de experiência em raiva. Nesta edição da RITA, a vencedora do prêmio foi Paola Zarati Segura, do México, que estava concluindo seu trabalho de Doutorado no Centers for Disease Control and Prevention – CDC – Atlanta, Estados Unidos, com o estudo “Real Time PCR for Antemortem Diagnosis and High Throughput Rabies Virus Screening”. Esse trabalho vem contribuir extraordinariamente para o diagnóstico precoce da raiva e aumentar as possibilidades de êxito no tratamento antirrábico, por meio do necessário acompanhamento laboratorial. É importante ressaltar que, em anos anteriores, alguns jovens pesquisadores brasileiros receberam esse prêmio.

A programação da RITA tem sido elaborada com a apresentação dos resumos, selecionados pelo Comitê Científico Nacional e referendados pelo Comitê Internacional, e aqueles recomendados para as sessões pôster. Seguindo essa estrutura, foram apresentados 181 resumos, de diferentes grupos de pesquisadores nacionais e internacionais, tendo sido selecionados 71 para apresentação oral e 110 para apresentação na forma de pôsteres. Entre aqueles selecionados para apresentação oral, 13 pertenciam a pesquisadores brasileiros, que participaram de diversas sessões sobre temas variados, como: “Raiva Humana”, “Imunologia, Profilaxia e Tratamento”, “Epidemiologia da Raiva”, “Diagnóstico Laboratorial da Raiva”, “Epidemiologia Molecular”, “Vacinas”, “Raiva em Animais

Silvestres” e “Modelos Matemáticos e Controle da Raiva”.

A relevância e a diversidade dos temas apresentados pelos pesquisadores nacionais demonstraram o nível de conhecimento científico existente em nosso país, o que possibilitou os avanços obtidos no estudo da epidemiologia da raiva humana, dos animais domésticos e dos animais silvestres, a identificação tanto de novos reservatórios, por meio da aplicação de metodologias laboratoriais de alta complexidade, como de distintas variantes espécie-específica do vírus da raiva. Com a difusão deste conhecimento, iniciamos uma nova fase do estudo da raiva em nosso país, com os olhos voltados para as populações silvestres, sem negligenciar as ações de controle e vigilância epidemiológica da raiva canina e felina.

Na XXIII RITA, o Comitê Organizador Nacional, dada a importância de o evento se realizar na América do Sul e a reemergência, na região, da raiva humana transmitida por morcegos hematófagos, programou uma mesa-redonda sobre “Raiva na Região Amazônica”, com a participação de representantes do Peru (Dra. Ana Maria Navarro), Equador (Dra. Carmen Parra Hidalgo) e Venezuela (Dr. Charles Briggs), que destacaram a problemática dos longos esquemas de pré-exposição, do difícil acesso às regiões nas quais ocorre esta transmissão, da inexistência de redes de frio, bem como sobre a vulnerabilidade da América Latina, determinada por características sanitárias, ambientais, socioeconômicas, demográficas e políticas peculiares.

Durante as sessões de pôsteres, foi montada uma exposição de fotos, trazidas pelo Dr. Charles Briggs, antropólogo americano que

trabalha na Venezuela há muitos anos, sobre casos de raiva humana em populações indígenas da Venezuela, transmitida por morcegos hematófagos. Esse material foi doado aos organizadores da RITA-São Paulo, com a proposta de serem realizadas exposições itinerantes no país.

Outra mesa-redonda de destaque na RITA de São Paulo foi “Profilaxia da Raiva Humana”, com a participação do Dr. Henry Wilde, Dr. Charles E. Rupprecht e Dra. Neide Y. Takaoka, coordenada pelo Dr. Rodney Willighouby, pesquisador pioneiro na cura da raiva humana. Os participantes discorreram, com notável experiência, sobre esquemas de tratamento profilático, pré e pós-exposição, utilizados nos diferentes continentes, e sobre as pesquisas clínicas atualmente desenvolvidas.

Foram pontos altos da reunião as apresentações feitas na sessão “Raiva Humana”, sobre características clínicas da raiva transmitida por cães e por morcegos, apresentadas pelo grupo canadense, coordenado pelo Dr. Alan Jackson, e pelo grupo americano, liderado pelo Dr. Charles E. Rupprecht.

A sessão “Epidemiologia da Raiva” trouxe também a certeza de que são necessários muitos estudos sobre o tema, ressaltando as questões relativas à importância da vigilância epidemiológica de felinos em regiões nas quais a raiva de quirópteros, hematófagos e não hematófagos é frequente.

Os trabalhos apresentados nas sessões orais e pôsteres constata a mudança do perfil epidemiológico da raiva no nosso meio. A existência de ciclos epidemiológicos dos quais participam animais silvestres, que atuam como “reservatórios”, nos coloca frente a um novo desafio, comparável à situação existente em países como

Estados Unidos, Canadá e aqueles pertencentes à Europa.

Durante o evento, tradicionalmente ocorre uma reunião regional sobre “Plano de Controle da Raiva Silvestre na América do Norte”, com a participação dos coordenadores nacionais e profissionais dos programas dos Estados Unidos, Canadá e México. Neste ano, a reunião teve 62 participantes.

Antes da sessão de encerramento, a Dra. Debora Briggs proferiu palestra sobre “A Aliança Global para o Controle da Raiva”, mostrando os extraordinários resultados obtidos desde a criação desta Organização, em 2006, durante a RITA de Brasília, especialmente em trabalhos voluntários realizados na Ásia e África e em países em desenvolvimento da América Central.

Como é hábito, ainda antes do encerramento, foi apresentado o país-sede da RITA de 2013: o Canadá, mais especificamente, a cidade de Toronto. O evento ocorrerá no período de 27 a 31 de outubro.

Durante todo o evento, houve tradução simultânea em português, espanhol e inglês, com recursos fornecidos pela Secretaria de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde, visto ser este um requisito do Comitê Internacional ao país-sede.

A perspectiva da realização da RITA no Brasil, a cada quatro anos, trouxe ao continente sulamericano a oportunidade de discutir as questões particulares da região, estabelecer cooperações interinstitucionais e promover avanços para a declaração de áreas livres de raiva humana e canina, determinadas por variantes de origem canina (1 e 2), com o apoio dos Ministérios da Saúde de cada país e da Organização Panamericana de Saúde.

Teste PCR em Tempo Real para Diagnóstico *Antemortem* em Humanos e Triagem de High Throughput do Vírus da Raiva*

Real Time PCR For Antemortem Diagnosis In Humans and High Throughput Rabies Virus Screening

Zarate-Segura, P^{III}; Bastida-Gonzalez, F^I; Ellison, J^{II}; Gallardo-Romero, N^{III}; Loparev, V^{IV}; Velasco-Villa, A^{II}

^IInstituto Politécnico Nacional, MEX - ESM-UPIBI; ^{II}Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta USA - Rabies Section; ^{III}Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta USA - POX Section; ^{IV}Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta USA - Biotechnology Core Facility

RESUMO: a raiva é uma das mais antigas e devastadoras doenças, tipicamente com um índice de mortalidade de 100% dos casos. O diagnóstico da raiva *antemortem* em humanos é importante para definir os procedimentos de controle da infecção e evitar maior exposição das equipes de saúde e de outras pessoas que podem ter tido contato com a saliva do paciente; para determinar epidemiologicamente se outros indivíduos foram expostos à mesma fonte; para monitorar a progressão da doença, mediante intervenções terapêuticas experimentares; para evitar a infecção cruzada durante transplantes de órgãos e, caso negativa, para examinar outros diagnósticos diferenciais. A obtenção de quatro amostras é o recomendado para testes *antemortem* de raiva em humanos (por meio da saliva, do soro, de biópsia de pele da nuca e do fluido cerebrospinal), nos quais os anticorpos, os antígenos virais e os ácidos nucleicos são detectados empregando métodos de neutralização, imunofluorescência direta e indireta e transcrição reversa de PCR. O momento chave para obtenção de resultados conclusivos, nas quatro amostras analisadas por todas as técnicas, é aproximadamente de 24 a 48 horas. A PCR em tempo real parece ser uma técnica promissora para acelerar os resultados da detecção no ácido nucleico e quantificar, com maior precisão, as cargas virais nas amostras dos pacientes. Não existe, porém, *primer* ou *probe* universal que possa detectar a ampla diversidade dos lissavirus descrita até o momento, o que reduz drasticamente a sensibilidade do teste. O objetivo deste estudo foi traçar o desenho de um ensaio sensível e específico de PCR em tempo real capaz de detectar e quantificar uma ampla variedade dos vírus de raiva em amostras *antemortem* e *postmortem* em tecidos e fluidos corporais de humanos e animais. **MÉTODOS:** Mais de 2.500 sequências completas de nucleoproteínas de RABV representativas de um espectro global de variantes obtidas das bases de dados do GenBank e do CDC foram analisadas para desenhar 12 conjuntos de *primers* e *probes* amplamente reativos. Dois conjuntos de *primers* e *probes* obtidos da literatura foram também considerados, concomitantemente. Um total de 14 conjuntos foram testados, todos em silicone, com um painel de 20 isolados de vírus (representando uma ampla variedade de RABV em circulação em morcegos e carnívoros em todo o mundo) usando a transcrição reversa PCR em tempo real e ensaios de PCR em tempo real realizados, ambos, em um Light Cycler 480 (Roche, Alemanha) e CFX96 Touch™ Real-Time PCR (Bio-Rad, USA) Detection System para propósitos de comparação. Uma gotícula do sistema de PCR digital QX100 (Bio-Rad Laboratories, Inc) foi usada para avaliar o número de cópias de

*Trabalho Premiado na Reunião Internacional de Raiva nas Américas (RITA) – Brasil, 2012

amplicons por amostra. Para confirmar a detecção os produtos do PCR foram sequenciados e identificados na base de dados do BLAST NVBI. **RESULTADOS:** Os conjuntos de *primers* e *probes* anteriores, obtidos da literatura, tinham sensibilidade limitada, circunscrita aos RABV em circulação em regiões respectivas da Ásia e da África. Nenhum dos conjuntos de *primers* e *probes* que desenhamos foi capaz de, isoladamente, detectar todos os vírus testados. Um pequeno conjunto de cinco *primers* e *probes*, porém, desde que usados concomitantemente em reações separadas, foram capazes de detectar todos os RABV incluídos neste estudo. O sistema foi sensível o suficiente para detectar até cinco cópias de *amplicon*. **CONCLUSÕES:** A PCR em tempo real é uma técnica altamente sensível e específica, porém ainda não existe um único conjunto de *primers* e *probes* amplamente reativos, capaz de detectar toda a diversidade de lissavirus existente. Nós descrevemos cinco conjuntos de *primers* amplamente reativos que foram usados concomitantemente em uma plataforma de 96 poços para detectar todos os RABV notificados globalmente. Esse formato é adequado para o diagnóstico *antemortem* da raiva em humanos e para triagem de grande quantidade de material biológico das amostras obtidas em campo. Pesquisas adicionais em um ensaio quantitativo serão não somente capazes de avaliar o número de cópias de amplicons, mas também de correlacionar com um total estimado do número de partículas viáveis dos vírus.

Referência

1. Wacharapluesadee S, *et al.* Expert Rev Mol Diagn. 10(2):207, 2010. Coertse J, *et al.* J Clin Microbiol. 48(11):3949, 2010.