

Programa de Vigilância de Zoonoses e Manejo de Eqüídeos do Estado de São Paulo
Zoonosis and Equine Management Program of the State of São Paulo

Módulo II: Principais zoonoses virais de eqüídeos e vigilância epidemiológica em unidades municipais
Module II: Major equine viral zoonosis and epidemiological surveillance in municipal unities

Ivanete Kotait¹; Fumio Ito²; Maria Luiza Carrieri¹; Maria Conceição A. Macedo Souza³; Nilton Fidalgo Peres³; João José de Freitas Ferrari³; Francisco Anilton Alves Araújo⁴; Vera Lucia N. Gonçalves³

¹Instituto Pasteur. Coordenadoria de Controle de doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (IP/CCD/SES-SP). São Paulo, SP; ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP); ³Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (SAA-SP); ⁴Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS)

Introdução

Os eqüídeos apresentam grande susceptibilidade a diferentes vírus, podendo, portanto, ser utilizados como indicadores, ou mesmo sentinelas, da circulação de determinados agentes em uma região. As doenças nesses animais, de uma forma geral, têm aumentado principalmente em função do seu intenso trânsito. Se considerarmos as principais zoonoses virais em eqüídeos (encefalites eqüínas leste, oeste e venezuelana, raiva, febre do Nilo Ocidental), torna-se fundamental o seu diagnóstico diferencial.

Ao considerar o grupo dos vírus, vale ressaltar que mais de 20 famílias contêm patógenos que infectam humanos, sendo as principais delas: *Bunyaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae* e *Togaviridae*. Ressalta-se que as famílias de vírus RNA possuem taxas de mutação elevadas, podendo infectar um número significativo de hospedeiros animais. Por esses motivos surgem, mediante seleção natural, amostras de maior virulência a partir de grande número de padrões genômicos circulantes².

No Brasil, assim como em toda a América Latina, há alguns fatores favorecedores ao aparecimento das doenças emergentes e reemergentes, tais como características ecológicas, demográficas, sanitárias, socioeconômicas e políticas.

As estratégias de prevenção e controle das zoonoses necessitam ser inovadas e requerem esforços combinados de profissionais de muitas áreas ligadas à saúde pública, como, por exemplo, médicos veterinários e médicos¹.

Os serviços municipais de controle de zoonoses ou de controle animal devem possuir profissionais capacitados e atentos aos sintomas das encefalites eqüínas e à necessidade do diagnóstico diferencial, visando à detecção precoce destas enfermidades.

A Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP) propõe diretrizes voltadas para a vigilância epidemiológica das zoonoses que envolvem eqüídeos, integrando o Programa de Vigilância de Zoonoses e Manejo de Eqüídeos recomendado para os serviços municipais. Essas diretrizes serão publicadas em dois módulos. Nesta edição serão enfocadas as

zoonoses virais; na próxima, a abordagem será para as demais zoonoses de eqüídeos.

1. Zoonoses virais

1.1. Raiva

A raiva, doença conhecida desde a Antigüidade, com primeiro registro no código de Eshunna no século XXIII a.C., esteve associada aos cães e suas mordeduras até o século XV, quando registros de óbitos de conquistadores espanhóis e seus animais no Novo Mundo sugeriram a ocorrência de raiva transmitida por morcegos³. A hipótese da participação dos morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*) como transmissores da raiva foi aventada no Brasil, pela primeira vez, em 1911, por Antonio Carini⁴, ao estudar um surto de raiva em bovinos e eqüinos no Vale do Itajaí, Santa Catarina. Esta hipótese foi confirmada por Haupt e Rehaag⁵.

A raiva, uma encefalomielite aguda de evolução fatal, é transmitida principalmente por mordedura de animais infectados que possuem o vírus na saliva. Nos eqüinos, como nos bovinos, o principal transmissor é o morcego hematófago *Desmodus rotundus*, também chamado no continente americano de vampiro comum.

O vírus da raiva é um RNA-vírus, envelopado, que pertence à ordem Mononegavirales, família *Rhabdoviridae*, gênero *Lyssavirus*, que está, atualmente, classificado em sete genótipos¹. Apenas o genótipo 1, espécie *Rabies virus*, foi registrado em eqüinos.

Durante um longo período a raiva dos eqüinos foi tratada como uma enfermidade de importância menor, face à sua maior ocorrência na espécie bovina. Com o desenvolvimento de programas nacionais de controle da raiva bovina na América Latina e a utilização da vacinação sistemática apenas destes animais, a raiva em eqüinos começou a ganhar destaque, tendo em vista que aumentou sua freqüência por permanecer como uma população não-imunizada.

A distribuição da raiva nesta espécie animal coincide com a distribuição do morcego hematófago, que vai do sul do México à região centro-oeste do Chile e ao norte da Argentina, incluindo todo o território brasileiro. Na América do Norte os casos registrados em eqüinos têm como principais transmissores os canídeos silvestres, considerados os reservatórios mais importantes do vírus da raiva na região.

O período de incubação é, em geral, de 20 a 60 dias. Os sinais clínicos se iniciam no local da mordedura do morcego, com intenso prurido, levando os animais a se morderem, provocando graves lesões. Dão a impressão de estarem intranqüilos, em estado de alerta, com as orelhas eretas e com grande mobilidade; evitam se alimentar; apresentam aberração do apetite, paralisia da garganta, não conseguem ingerir alimentos, apresentam salivação abundante e, finalmente, deitam em decúbito lateral e morrem em poucos dias⁶. Em alguns casos, a evolução é muito rápida, o que chega a dificultar o diagnóstico clínico, tornando cada vez mais indispensável o diagnóstico diferencial de laboratório.

O diagnóstico laboratorial é realizado seguindo as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS)⁷, através de imunofluorescência direta (IFD)⁸ e do isolamento viral em camundongos (IVC)⁹ e/ou em células N 2A (IVC)¹⁰. Alguns aspectos do diagnóstico da raiva em eqüinos vêm sendo descritos, provavelmente em razão das diferentes concentrações de vírus rábico nos diversos fragmentos do sistema nervoso central.

Em 2000, pesquisadores brasileiros verificaram que a técnica de IFD, embora seja considerada a técnica-ouro para o diagnóstico da raiva, apresentava 20% de falso-negativos quando realizada em amostras oriundas da espécie eqüina¹¹. Mais recentemente, em 2006, outros autores que estudaram peculiaridades da raiva em eqüinos relataram que as maiores concentrações de vírus foram identificadas na medula e no tronco encefálico, quando comparadas com o córtex, o corno de Amon e o cerebelo. Medula e tronco encefálico são, portanto, os melhores fragmentos para encaminhamento ao laboratório de diagnóstico quando a suspeita clínica é a raiva¹².

Há relatos de raiva humana por contato com eqüinos na Etiópia¹³ e dois casos no Brasil¹⁴. A identificação, pela primeira vez, de vírus da raiva em glândulas salivares de eqüinos que morreram por infecção com o vírus rábico demonstra, claramente, esta possibilidade, especialmente quando se considera a estreita

relação homem-equíno no seu manejo diário¹².

As técnicas de biologia molecular, amplamente utilizadas na atualidade, fornecem importantes informações a respeito dos casos de raiva em eqüinos em áreas onde a doença é considerada sob controle, especialmente informações relativas à fonte de infecção¹.

Como em outras espécies, a raiva eqüina não possui tratamento, sendo recomendada para a sua prevenção, principalmente em áreas de risco, a vacinação sistemática com vacinas inativadas. Em animais primo-vacinados, a partir do terceiro mês de vida, devem ser aplicadas duas doses de vacina, com intervalo de 30 dias entre elas. A revacinação deverá ser anual.

Indispensável para o controle da raiva em eqüinos são, também, as ações de controle populacional do *Desmodus rotundus*, atualmente realizado com o uso de pastas vampiricidas, ficando a vacinação a cargo do proprietário do animal e o controle populacional dos morcegos hematófagos sob a responsabilidade dos órgãos de defesa sanitária animal federal, estadual e municipal.

Importante colaboração pode ser dada pelos proprietários dos animais com a utilização de pasta vampiricida (substância anticoagulante, produzida comercialmente) ao redor das mordeduras provocadas pelos morcegos, dado o hábito freqüente destes animais retornarem à mesma presa em dias sucessivos¹⁵.

1.2. Encefalites eqüinas (leste, oeste e venezuelana)

As encefalites dos eqüinos nas Américas são causadas por vírus que estão classificados em duas famílias: *Togaviridae* e *Flaviviridae*¹⁶, antes classificados universalmente como Arbovírus dos grupos A e B, respectivamente.

Os vírus causadores das encefalites eqüinas leste, oeste e venezuelana são RNA-vírus, envelopados, que estão classificados na família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*. Possuem uma grande variedade de hospedeiros que inclui mosquitos, aves e mamíferos, dentre os quais o homem, o que torna sua epidemiologia bastante complexa⁶. Estas enfermidades são consideradas importantes zoonoses, tanto pela gravidade da doença no homem como pela similaridade sintomática com outras encefalites, em especial a raiva.

A encefalite eqüina do leste (EEL) foi detectada pela primeira vez nos Estados Unidos, em Massachusetts, em 1931, a partir de onde foram detectados surtos em vários outros Estados. O vírus foi isolado apenas em 1933, sendo ele o mais virulento entre os três, determinando letalidade em animais de 80%-90% e em humanos de 65%, com alta freqüência de seqüelas permanentes nos sobreviventes, como retardo mental, convulsões e paralisia. Nos humanos, as crianças e os idosos são mais susceptíveis⁶.

A EEL apresenta nos eqüídeos quatro padrões de infecção e duas formas clínicas. Os padrões de infecção são:

- a) caracterizada por uma reação febril bifásica (fatal ou não);
- b) simples aumento de temperatura;
- c) viremia, sem febre ou qualquer outro sintoma e
- d) ausência de viremia e manifestações clínicas.

Em relação às formas clínicas, ressaltam-se a atáxica (caracterizada pela perda de equilíbrio, cegueira, patas abertas, apoio lateral) e a paralítica (caracterizada por profunda depressão, pálpebras tumefeitas, olhos fechados, sonolência e taquicardia)⁶.

Atualmente, são conhecidas quatro linhagens ou grupos do vírus da EEL: I, IIA, IIB e III, tendo sido registradas no Brasil as linhagens IIA, IIB e III¹⁷. Os últimos isolamentos de vírus foram realizados no

Estado de São Paulo^{18,19}, porém vários estudos epidemiológicos em vetores ou sorológicos em eqüinos têm demonstrado sua ampla difusão no País²⁰. Há autores, no entanto, que diferenciam apenas variantes norte-americanas e sul-americanas, sendo as primeiras consideradas mais virulentas em humanos e eqüinos¹⁷.

A EEL possui dois ciclos epidemiológicos: o básico silvestre (enzoótico), que ocorre nos pântanos, e um segundo ciclo, com erupção de focos naturais. No primeiro há participação de aves silvestres e mosquitos do gênero *Aedes* e no segundo, pássaros locais ou domésticos e mosquitos do gênero *Culex*⁶. Nestes dois ciclos os cavalos e humanos são hospedeiros terminais.

Entre 1912 e 1930 mais de 30.000 eqüinos morreram em região dos Estados Unidos com sintomatologia semelhante à da EEL, mas com uma letalidade de 3%-4% em humanos e 50% em animais⁶.

O vírus da encefalite eqüina do oeste (EEO) foi isolado em 1938 e apresentava características sorológicas semelhantes, tendo mosquitos do gênero *Culex* como vetores. Os cavalos e o homem são hospedeiros acidentais e menos de 1% desenvolvem sintomas, apresentando baixa viremia. Há controvérsias sobre o isolamento do vírus da EEO em eqüinos no Brasil, porém há registro de isolamento em *Culex*, na floresta da Tijuca, no Rio de Janeiro²¹.

Cerca de 30 espécies de aves desempenham papel importante como reservatórios. Estes animais podem apresentar alta viremia, havendo indícios de que os répteis, no inverno, podem atuar também como reservatórios⁶.

O vírus da encefalomielite eqüina venezuelana (EEV) foi isolado pela primeira vez em 1934, em Guajira, Venezuela, e é atualmente uma reemergência continental; possui um caráter explosivo, envolvendo muitos indivíduos (cavalos e humanos) e, por esta razão, possui forte impacto econômico e social. Embora sejam conhecidos seis subtipos do vírus da EEV, somente dois deles são importantes para eqüinos e humanos. No ciclo epizootico, além dos eqüinos atuarem como amplificadores dos vírus, foram descritos isolamentos virais em cerca de 30 outras espécies de mamíferos. Os principais vetores epidêmicos são mosquitos dos gêneros *Aedes*, *Mansonia* e *Psorophora*²².

No ciclo enzoótico da EEV os vírus não são patogênicos para cavalos, sendo que os morcegos podem atuar como hospedeiros alternativos para manutenção da circulação viral, especialmente quando muitos mamíferos silvestres tornam-se imunes. Entre os gêneros e/ou espécies de morcegos já identificados como hospedeiros alternativos destacam-se: *Desmodus rotundus*, *Artibeus spp*, *Carollia perscipillata* e *Uroderma bilobatum*, com isolamentos realizados no Brasil (Vale do Ribeira, SP), México, Equador e Guatemala^{23,24,25}.

Pelo exposto, é possível observar a ampla gama de reservatórios dos *Alphavirus* (como aves silvestres, domésticas e sinantrópicas), roedores, quirópteros, ungulados e répteis⁶.

A saliva dos mosquitos possui vírus com alto título e, através da picada, promovem uma infecção subcutânea que atinge a musculatura esquelética no ponto de inoculação, atingindo, posteriormente, as células de Langerhans que levam os vírus até os linfonodos locais. A habilidade de atingir o sistema nervoso central (SNC) depende da duração e do grau da viremia e das características da cepa viral. A forma de penetração no SNC é ainda desconhecida; porém, sugere-se que a dos vírus da EEL e da EEO se dê através do plexo coróide, enquanto a do vírus da EEV, do nervo olfativo⁶.

Eqüinos e humanos são hospedeiros terminais das EEL e EEO, pois as transmissões eqüino-eqüino e eqüino-humano não ocorrem. Diferentemente, a transmissão do vírus da EEV, que pode ser eliminado por secreções orais e nasais, pode ocorrer por contato direto ou aerossóis.

Os animais infectados pelos *Alphavirus* apresentam febre, cegueira, depressão, anorexia, paralisia labial, perda de reflexos, andar cambaleante ou em círculos e paralisia, podendo ou não evoluir para o óbito. Estes sintomas fazem com que seja impossível o seu diagnóstico clínico, bem como o da raiva, exigindo desta forma técnicas laboratoriais específicas.

Entre as técnicas clássicas de diagnóstico laboratorial está o isolamento viral em camundongos lactentes e/ou cultivos celulares (fibroblasto de embrião de galinha, VERO, BHK etc.); a identificação pode ser feita

por meio de teste de neutralização por redução de placas, fixação de complemento e imunofluorescência direta ou indireta. Deve-se ressaltar, no entanto, que os vírus das EEL, EEO e EEV possuem bastante sensibilidade às variações de pH e temperatura, o que torna o seu isolamento muito difícil, e o que impõe o imediato envio de amostras de SNC ao laboratório²⁶.

Amostras pareadas de soro obtidas na fase aguda e na fase de convalescença (2 ou 3 semanas após) podem também fornecer resultados confiáveis, desde que realizados testes sorológicos, tais como o de neutralização, inibição de hemaglutinação, fixação do complemento ou ELISA com anticorpos específicos²⁶. Soroconversão de até quatro vezes nos títulos de anticorpos das coletas de sangue é confirmatória de encefalite viral. Soropositivo em uma só coleta pode ser indicativo de infecção em casos de animais não-vacinados.

Sangue e líquido céfalo-raquidiano podem, também, ser coletados na fase aguda e enviados ao laboratório para isolamento viral em camundongos ou células²⁶. As técnicas moleculares (RT-PCR e seqüenciamento) têm sido utilizadas no diagnóstico das encefalites, permitindo a comparação dos diferentes isolados e estudos filogenéticos.

Outras causas de sintomatologia neurológica, incluindo infecções bacterianas e fúngicas, tumores, doenças parasitárias, doenças degenerativas e intoxicações, devem ser investigadas através de testes específicos.

A prevenção dos eqüinos contra as encefalites eqüinas é realizada com o uso de vacinas, que são recomendadas a partir do terceiro mês, com revacinação semestral. As vacinas comerciais utilizadas no Brasil são ainda as bivalentes (EEL e EEO) e inativadas, tendo em vista a não comprovação da ocorrência do vírus da EEV. Medidas de controle de vetores também reduzem o risco de exposição e, conseqüentemente, de infecção, tais como a eliminação de água parada e criadouros de mosquitos.

1.3. Encefalite de St. Louis (ESL)

O vírus da encefalite eqüina de St. Louis está classificado na família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*, amplamente distribuído nas Américas, desde o Canadá até a Argentina. É um RNA-vírus que faz parte do complexo antigênico das Encefalites Japonesas, juntamente com Murray Valley, Kunjin, Rocio, Ilheus, febre do Nilo Ocidental etc. Foi reconhecido como um vírus causador de uma encefalite humana em 1932, em um surto em Illinois, e no ano seguinte em Saint Louis e Kansas, no Missouri, Estados Unidos⁶. No Brasil, o primeiro isolamento do vírus da ESL foi realizado em 1960, em um *pool* de mosquitos *Sabethes belisarioi* coletados na rodovia Belém-Brasília²⁰.

Os principais reservatórios destes vírus são as aves silvestres (passeriformes e columbiformes), os primatas, os marsupiais e outros silvestres. Já foi isolado de morcego insetívoro *Tadarida brasiliensis mexicana*, no Texas (EUA). O vírus é transmitido por mosquitos do gênero *Culex*²⁰.

Assim como em outras encefalites, as aves migratórias, em suas distintas rotas, são responsáveis pela dispersão dos vírus pelas Américas. Há, no entanto, diferenças biológicas e genéticas entre os isolados na América do Norte e América do Sul⁶.

As manifestações clínicas em humanos da ESL podem variar muito, desde inaparentes (com freqüência), a leves sintomas e infecção grave. Nas infecções graves comumente ocorrem dor de cabeça, febre alta, desorientação, tremores, convulsões, paralisia, coma e morte. É a encefalite viral mais comum nos Estados Unidos, sendo mais grave em jovens e idosos. Nestes últimos a mortalidade é de cerca de 30%. Quando ocorre a doença em humanos, aparece também em cavalos e outros mamíferos, geralmente na forma subclínica.

Na Argentina a distribuição do vírus da ESL é ampla, com casos em humanos e eqüinos. No Brasil há vários levantamentos sorológicos que relatam a presença de anticorpos em humanos e, em algumas oportunidades, houve isolamento viral²⁷. A verificação de anticorpos em eqüinos também tem sido realizada, porém a infecção é em geral inaparente e, por esta razão, não está bem dimensionada.

O diagnóstico da ESL pode ser realizado com sangue ou tecido nervoso, pelas técnicas convencionais de diagnóstico das arboviroses. Atualmente, as técnicas moleculares oferecem uma grande contribuição

para o seu diagnóstico²⁶.

Não há vacina para sua prevenção, porém, nos Estados Unidos, em áreas de ocorrência de ESL, as autoridades de saúde mantêm programas de vigilância, com captura de aves, para monitorar a presença de anticorpos.

1.4. Febre do Nilo Ocidental (FNO)

O agente causal da febre do Nilo Ocidental (FNO) é também um vírus classificado na família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*, e faz parte do complexo antigênico das encefalites japonesas¹⁶.

O primeiro isolamento do vírus da FNO foi realizado em Uganda, em 1937, e até o final da década passada era reconhecida como uma doença do Velho Mundo. Na década de 1950 causou em Israel uma doença febril em humanos e na década de 1970 ficou restrito à África, Europa, Ásia e Oceania²⁸.

Em 1999, o vírus da febre do Nilo Ocidental emergiu no Novo Mundo, tendo sido identificado como agente causal de um surto de encefalite em humanos ocorrido em Nova York (EUA), com 62 casos documentados e 7 mortes. Em eqüinos foram registrados 24 casos e 9 mortes. Nos anos subsequentes houve uma ampla difusão da Costa Leste à Oeste dos Estados Unidos e, posteriormente, em direção à América Central, com detecção de casos no México, El Salvador e Ilhas do Caribe^{29,30}.

A partir de 2004 foram identificados anticorpos em eqüinos da Colômbia e da Venezuela pela técnica de neutralização por redução de placas^{31,32}. Em 2006, o vírus foi isolado de eqüinos na Argentina (província de Buenos Aires)³³, onde, mais recentemente, em estudo retrospectivo, foram identificadas aves sorologicamente positivas³⁴.

Diversas espécies de animais do Velho e do Novo Mundo possuem anticorpos contra o vírus da FNO; porém, o isolamento é mais raro em animais do Velho Mundo, quando comparado com o Novo Mundo. Isto ocorre, provavelmente, porque os recentes isolados são mais patogênicos³⁰.

O vírus da FNO já foi isolado em cerca de 170 espécies de aves e 30 de vertebrados (eqüídeos, morcegos, camelos, suínos, caprinos, ovinos, cães e anfíbios). A evolução da infecção depende da espécie envolvida, da idade do animal, do status imunológico e da patogenicidade do vírus isolado.

Além da transmissão por vetores (*Culex* sp), a FNO possui outras formas de transmissão, tais como por transfusão, por transplantes de órgãos, placentária e percutânea³⁵.

Algumas características epidemiológicas da FNO devem ser mencionadas: predomina o ciclo amplificado em aves; há possibilidade de transmissão vertical em aves; há a transmissão cloacal-oral; a ingestão de carcaças e mosquitos pode infectar aves; há infecção natural em morcegos (*Tadarida brasiliensis* e *Eptesicus fuscus*); e os casos em eqüinos precedem a detecção de aves soropositivas³⁶.

A elevada persistência do vírus em uma região se deve, principalmente, à transmissão vertical em vetores e à sobrevivência em vetores durante o inverno. Segundo alguns autores, a difusão do vírus da FNO no Continente Americano vem se constituindo em um problema de saúde pública “desconcertante”, face às diferenças apresentadas em ecossistemas tropicais ou à provável atenuação do vírus no continente sul-americano³⁰.

Para o diagnóstico laboratorial as técnicas recomendadas são: o isolamento viral, a imunofluorescência direta, o ELISA, o teste de neutralização por redução de placas e as técnicas de biologia molecular (RT-PCR e seqüenciamento). O material a ser enviado ao laboratório, no caso da doença em animais que foram a óbito, é o SNC de eqüinos e sangue, cérebro, fígado e baço das aves. No caso da pesquisa de anticorpos, o soro é o material de eleição³⁵.

Considerando que no Brasil há a segunda maior avifauna do planeta, que chegam centenas de espécies de aves migratórias do Hemisfério Norte, onde o vírus foi isolado com frequência³⁶, e que há grande diversidade de espécies de vetores, a entrada e a manutenção do vírus na região estão favorecidas.

O controle da FNO se faz, atualmente, por meio da vacinação dos susceptíveis e do controle de vetores, sendo que novas vacinas estão em teste, além das de vírus vivo modificado e inativadas que existem comercialmente. Entretanto, no Brasil não há vacina disponível³⁵.

Quadro 1. Principais características de algumas zoonoses virais de eqüídeos.

Patologia	Família	Gênero	Transmissão	Reservatório
Raiva	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Lyssavirus</i>	Direta	<i>Carnivora Chiroptera</i>
Encefalite eqüina leste	<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	Vetorial	Aves
Encefalite eqüina oeste	<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	Vetorial	Aves
Encefalite eqüina venezuelana	<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	Vetorial	Roedores silvestres/Aves
Encefalite St. Louis	<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	Vetorial	Aves
Febre do Nilo Ocidental	<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	Vetorial	Aves

2. Diagnóstico das encefalites virais: coleta, envio de amostras e testes laboratoriais

Os procedimentos para coleta, conservação e acondicionamento das amostras biológicas podem ser variados, na dependência dos exames a serem realizados. Para possibilitar o diagnóstico diferencial é importante o envio de fragmentos de todas as regiões do sistema nervoso central, a saber: córtex, corno de Amon, cerebelo, tronco encefálico e medula; soro sanguíneo, em condições de refrigeração ou congelamento, da forma mais rápida possível.

O diagnóstico laboratorial destas encefalites pode ser feito através do isolamento e identificação viral ou de testes sorológicos. Os testes principais são: imunofluorescência direta (IFD), inibição da hemaglutinação (HI), soroneutralização (SN) e ensaio imunoenzimático (ELISA). Amostras de sangue poderão ser utilizadas para obtenção de soro ou para isolamento viral, devendo ser utilizados frascos com tampa de rosca, evitando o vazamento de líquido.

Conforme descrito, as patologias que afetam o sistema nervoso central normalmente não apresentam lesões macroscópicas, sendo importante que observações clínicas sejam encaminhadas junto com a amostra. Devem ser tomados cuidados especiais para a coleta das amostras, pois a retirada do encéfalo nestes animais requer tempo e esforço. A cabeça do animal pode ser removida desfazendo a articulação atlantoccipital. Devem ser previstos instrumentais adequados para abertura da calota craniana, bem como recipientes com desinfetantes apropriados (hipoclorito, lisol e fenol, entre outros) para imersão do instrumental utilizado.

Para o diagnóstico de raiva e das outras encefalites a amostra deve ser acondicionada em recipientes ou saco plástico duplo, vedados herméticamente, identificado de forma clara e legível, não permitindo que a identificação se apague com água ou gelo. A amostra deve ser colocada em caixa térmica, rotulada, bem fechada, não permitindo vazamentos. Para o diagnóstico das demais zoonoses, o soro é o material de eleição.

Deve ser considerado que, de acordo com a RDC nº 306 de 07/12/2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), e a Resolução nº 358 de 29/04/2005, do Conselho Nacional de Meio Ambiente (Conama), os resíduos que apresentam risco potencial à saúde humana e ao meio ambiente não poderão ser dispostos no meio ambiente sem tratamento prévio que assegure a descaracterização de risco do resíduo^{37,38}. A manipulação cuidadosa, a assepsia, o transporte até o laboratório e o destino adequado dos espécimes constituem medidas essenciais para se evitar acidentes.

Equipamentos de proteção individual (EPIs): devem ser utilizadas luvas de procedimentos, máscaras, protetores oculares, macacão ou avental impermeável (considerar o conforto térmico e mobilidade),

proteção impermeável para sapatos ou botas. Em determinadas áreas, deve ser considerado o uso de repelentes e vestimenta capaz de proteger contra picadas de insetos.

3. Vigilância epidemiológica

As ações de vigilância epidemiológica são extremamente importantes na detecção de quaisquer das zoonoses aqui tratadas, em especial quando são desenvolvidas as atividades de controle de eqüinos nos diferentes municípios.

As amostras de sistema nervoso central coletadas de animais com suspeita clínica de raiva e encaminhadas para o diagnóstico desta enfermidade, quando apresentarem resultados laboratoriais negativos, devem ser submetidas ao diagnóstico diferencial para *Alphavirus* (encefalites eqüinas) e *Flavivirus*, visando determinar a possível ocorrência das outras encefalites virais.

Fatores ambientais e climáticos influenciam diretamente na ocorrência de determinadas enfermidades, em especial as veiculadas por vetores, e a atenção permanente permitirá a adoção de medidas preventivas e/ou de controle com eficiência.

No caso das encefalites virais, algumas recomendações e linhas de pesquisa devem ser adotadas, contribuindo para a construção de um programa de vigilância epidemiológica das encefalites eqüinas e cuidados necessários em sua prevenção e controle. Seu objetivo geral é prevenir a ocorrência de zoonoses causadas pelos vírus da raiva, das encefalites eqüinas e da febre do Nilo Ocidental.

Este programa também tem como objetivo:

- conhecer a magnitude das zoonoses virais, anteriormente relacionadas, nos animais;
- reduzir a ocorrência de casos de raiva, FNO e EE em animais;
- identificar precocemente a circulação dos vírus da raiva, FNO e EE em seus ciclos epizoóticos;
- conhecer a importância desses vírus para a epidemiologia das meningites virais em humanos e
- montar estratégias de prevenção e controle, de acordo com a realidade local.

A ocorrência de óbitos e/ou doença de um ou mais eqüinos de determinada região, com sintomatologia neurológica, é indicador da necessidade de intensificação de pesquisa epidemiológica e adoção de medidas preventivas.

No desenvolvimento do programa serão adotadas ações de vigilância passiva, apoiadas no Programa de Controle da Raiva dos Herbívoros, que já possui um sistema rápido e eficaz e funciona de acordo com a disponibilidade de uma rede laboratorial eficiente. A vigilância ativa será implantada quando, por meio de testes laboratoriais de diagnóstico diferencial, ocorrer a confirmação da presença de *Alphavirus* ou *Flavivirus* em animais e humanos.

4. Prevenção

Com o programa implantado e ativo, espera-se que estratégias simples e desenvolvidas corretamente dêem resultados eficientes e seguros. Ressalta-se que cada uma das enfermidades mencionadas possui ações específicas de controle aplicáveis ao nosso meio, que estão relacionadas abaixo:

- raiva: vacinação; controle populacional de *Desmodus rotundus*;
- encefalite eqüina do leste: vacinação, controle de trânsito dos animais, controle de vetores;

- encefalite eqüina do oeste e venezuelana: controle de vetores e
- encefalite St. Louis e febre do Nilo Ocidental: controle de vetores.

5. Outras patologias importantes nas unidades municipais

Anemia infecciosa eqüina: é regulamentada pelo Decreto 45.781, de 27 de abril de 2001, que regulamenta a Lei nº 10.670, de 24 de outubro de 2000; e pela Resolução SAA-1, de 17 de janeiro de 2002, que aprova as normas de prevenção e o controle da AIE no Estado de São Paulo⁴⁰. A regulamentação está disponível no site www.cda.sp.gov.br.

Tendo em vista a sintomatologia semelhante com as das zoonoses virais mencionadas, merece atenção o diagnóstico diferencial de herpes vírus, toxoplasmose, listeriose, neosporose e fusariose.

6. Segurança do trabalhador/vigilância médica

Os profissionais das unidades municipais devem ser vacinados contra a raiva e tétano, bem como realizar acompanhamento sorológico anti-rábico anual. Outras vacinas devem ser consideradas, na dependência da região.

Os funcionários envolvidos nas ações de controle de populações de animais e vigilância de zoonoses devem ser capacitados com regularidade; por meio de ações educativas específicas voltadas para a comunidade, poderão possibilitar a detecção precoce dos agentes virais envolvidos nas encefalites de eqüídeos e desencadear a adoção de estratégias específicas de prevenção e controle.

Este texto foi elaborado a partir do workshop “Manejo de Eqüídeos e Vigilância de Zoonoses”, realizado pela Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, no período de 6 a 9 de novembro de 2007.

Agradecimentos

Agradecemos a Vania de Fátima Plaza Nunes, da Prefeitura de Jundiaí, e a Luciana Hardt Gomes, da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, pelas sugestões apresentadas.

Referências bibliográficas

1. Kahn LH. Confronting zoonoses, linking human and veterinary medicine. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(4):556-61.
2. Schatzmayr HG. Víroses emergentes e reemergentes. *Cad Saúde Pública.* Rio de Janeiro. 2001;17(supl):209-13.
3. Rupprecht CH, Hanlon CA, Hemachudha T. Rabies re-examined. *Lancet Inf Dis.* 2002;2:327-43.
4. Carini A. Sur une grande épizootic de rage. *Ann Inst Pasteur.* 1911;25:843-6.
5. Haupt H, Rehaag H. Raiva epizootica nos rebanhos de Santa Catarina transmitida por morcegos. *Bol Soc Bras Med Vet.* 1925;2:17-47.
6. Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Washington (DC): Organización Panamericana de la Salud; 2003. v. 2. p 425.
7. Expert Consultation on Rabies. First Report (Technical Report). Geneva: World Health Organization; 2004. Series 931. p121.
8. Dean DJ, Ableseth MK, Atanasiu P. The fluorescent antibody test. In: Meslin F-X, Kaplan MM, Koprowski H. *Laboratory techniques in rabies.* 4ª ed. Geneva: World Health Organization; 1996. p.88-95.
9. Koprowski H. The mouse inoculation test. In: Meslin F-X, Kaplan MM, Koprowski H, editores. *Laboratory techniques in rabies.* 4ª ed. Geneva: World Health Organization; 1996. p.80-7.
10. King AA. Cell culture of rabies virus. In: Meslin F-X, Kaplan MM, Koprowski H. *Laboratory techniques in rabies.* 4ª ed. Geneva: World Health Organization; 1996. p.114-30.
11. Peixoto ZMP, Cunha SEM, Sacramento D, Souza MC, Queiroz da Silva LH, Germano PML, Kotait I. Rabies laboratory diagnosis: peculiar features of samples from equine origin. *Braz J Microbiol.*

- 2000;31:72-5.
12. Carrieri ML, Peixoto ZMP, Paciencia MLB, Kotait I, Germano PML. Laboratory diagnosis of equine rabies and implications for human postexposure prophylaxis. *J Virol Methods*. 2006;138:1-9.
 13. Fekadu M. Rabies in Ethiopia. *Am J Epidemiol*. 1982;37:477-81.
 14. Araújo FA. Raiva humana no Brasil, 1992-2001 [dissertação de mestrado]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária, 2002.
 15. Kotait I, Gonçalves CA, Peres NF, Souza MCA, Targueta MC. Controle da raiva dos herbívoros. São Paulo: Instituto Pasteur; 1998. Manuais, 1.
 16. Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA. Virus taxonomy. In: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Academic Press; 2005.
 17. Weaver SC, Power AM, Brault AC. Molecular epidemiology studies of veterinary arboviral encephalitides. *Vet J*. 1999;157:123-38.
 18. Kotait I, Peixoto ZMP, Coimbra TLM, Cunha EMS, Queiroz LH, Macruz R, et al. Isolamento e identificação do vírus da encefalomielite equina, tipo leste, em equinos do Estado de São Paulo, Brasil. *Arq Inst Biol São Paulo*. 1992;59:37-41.
 19. Brandão PE, Freitas PHB, Jerez JA, Carnieli Junior P, Carrieri ML, Kotait I. Identification of eastern equine encephalitis virus (*Togaviridae: Alphavirus*) in the central nervous system of horses in São Paulo State, southern Brazil by nested-RT-PCR and DNA sequencing. In: *Virus: reviews and research*. Salvador: Sociedade Brasileira de Virologia; 2005.10(1):89.
 20. Vasconcelos PFC, Rosa APAT, Pinheiro IP, Shope KF, Rosa JEST, Rodrigues SG, et al. Arboviruses pathogenic for man in Brazil. In: Rosa APAT, Vasconcelos PFC, Rosa JEST, editores. An overview of arbovirology in Brazil and neighbouring countries. Belém: Instituto Evandro Chagas; p.72-99.
 21. Bruno Lobo GG, Bruno Lobo M, Travassos J, Pinheiro F, Pazin IP. Estudos sobre arbovirus III. Isolamento de um vírus sorologicamente relacionado ao sub-grupo Western-Sindbis de um caso de encefalomielite equina ocorrido no Rio de Janeiro. *An Microbiol Rio de Janeiro*. 1961; 9: 183-95.
 22. Weaver SE, Ferro C, Barrera R, Boshell J, Navarro JC. Venezuelan equine encephalitis. *Ann Rev Entomol*. 2004; 49:141-74.
 23. Sanmartin C, Mackenzie RB, Trapido H, Barreto P, Mullamax CH Gutierrez E, et al. Encefalitis equina venezolana em Colombia. *Bol Ofic Sanit Panam*. 1967; 74:108-37.
 24. Seymour C, Dickerman RW, Martin MS. Venezuelan encephalitis virus infection in neotropical bats. I. Natural infection in a Guatemala enzootic focus. *Am J Trop Med Hyg*. 1978; 27:290-6.
 25. Calisher CH, Kinney RH, Souza Lopes O, Trent DN, Monath TP, Francly DB. Identification of a new Venezuelan equine encephalitis virus from Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 1982; 31: 1260-72.
 26. Griffin DE. Alphaviruses In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM *Virology*. 4ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
 27. Figueiredo LTM. Emergent arboviruses in Brazil. *Rev Soc Bras Med Tropical*. 2007;40:224-9.
 28. Petersen LR, Roehrig JT. West Nile Virus: a reemerging global pathogen. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:611-14
 29. Hayes EB, Komar N, Nasci RS, Montgomery SP, O'Leary DR, Campbell GL. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile Virus disease. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1167-73.
 30. Komar N & Clark GC. West Nile Virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev Panam Salud Publica*. 2006;19:112-7.
 31. Mattar S, Edwards E, Laguado J, González M, Alvarez J, Komar N. West Nile antibodies in Colombian horses. *Emerg Infect Dis*. 2005;9:1497-8.
 32. Bosch I, Herrera F, Navarro JC, Lentino M, Maffei J, Jones M et al. West Nile Virus, Venezuela. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:651-3.
 33. Morales MA, Barrandeguy M, Fabbri C, Garcia JB, Vissani A, Trono K, et al. West Nile Virus isolation from equines in Argentina, 2006. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:1559-61.
 34. Diaz LA, Komar N, Visintin A, Juri MJD, Stein M, Allende RL, et al. West Nile Virus in birds, Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:689-90.
 35. Centers for Disease Control and Prevention. Epidemic/epizootic West Nile Virus in the United States: revised guidelines for surveillance, prevention and control. Atlanta, 2001.
 36. Rappole JH, Derrickson SR, Hubalek Z. Migratory birds and spread of west Nile virus in the Western Hemisphere. *Emerg Infect Dis*. 2000;6:319-28.
 37. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Anvisa RDC n. 306/2004. Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF, 10 dez 2004.
 38. Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Conama n. 358. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá

outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF, 4 maio 2005, n. 84. Seção 1, p. 63-5.

39. Schatzmayr HG, Lemos ERS. Trabalho com animais silvestres. In: Cardoso TAO, Navarro MBMA, organizadores. A ciência entre bichos e grilos: reflexões e ações da biossegurança na pesquisa com animais. São Paulo: Hucitec; Rio de Janeiro: FAPERJ; 2007. p. 258-69.
40. São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Agricultura e Abastecimento. Coordenadoria de Defesa Agropecuária. Decreto n. 45.781, de 27 de abril de 2001. Regulamenta a Lei nº 10.670/2000, que dispõe sobre a adoção de medidas de defesa sanitária animal no âmbito do Estado de São Paulo. Disponível em: www.cda.sp.gov.br.

Correspondência/Correspondence to:

Ivanete Kotait
Av. Paulista, 393 - Jardins
CEP 01311-000 - São Paulo - Brasil
tel. 55 11 32880088
e-mail: ikotait@psteur@saude.sp.gov.br



Bepa
Av. Dr. Arnaldo, 351 - 1º andar, s. 135 – CEP: 01246-000
São Paulo - SP - tels.: (11) 3066-8823 / 3066-8825
e-mail: bepa@saude.sp.gov.br

