

Maio, 2006 Ano 3 Número 29

■ **Vigilância Epidemiológica das Encefalites Eqüinas** *Epidemiological Surveillance of Equine Encephalitis*

Ivanete Kotait¹; Paulo E. Brandão²; Maria Luiza Carrieri¹

¹Instituto Pasteur, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo – IP/CCD/SES-SP, ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade de São Paulo – FMVZ/USP

As doenças emergentes e reemergentes passaram a representar um desafio aos sistemas nacionais de saúde, especialmente dos países em desenvolvimento, muito embora as previsões para este início de século tenham vislumbrado um período com menor frequência de ocorrência de doenças infecciosas, em consequência de um maior desenvolvimento tecnológico. Lamentavelmente, porém, estas previsões não se cumpriram, em parte porque os benefícios advindos de novas tecnologias não se difundiram com a necessária rapidez e equidade, em parte pelo surgimento de novos patógenos e reemergência de outros que eram considerados sob controle.

Além dos problemas socioeconômicos e políticos, é importante mencionar, também, os fatores macrofacilitadores existentes no Brasil e outros países da América Latina, tais como as alterações ambientais (desmatamentos, construções de usinas, queimadas, exploração de recursos naturais etc.) e alterações demográficas (maior migração devido ao grande aumento de viagens, aumento populacional, provocando maior contato entre as pessoas, aumento do índice de pobreza, saneamento básico precário); associados aos fatores intrínsecos aos agentes patogênicos, também chamados de microfacilitadores (capacidade de mutação, virulência, formas de transmissão, resistência).

Atualmente, foi relatada a existência de 1.407 agentes patogênicos que infectam humanos, sendo que 58% causam zoonoses, 208 são agentes virais que determinam 77 doenças emergentes ou reemergentes¹.

Frente aos problemas decorrentes destas enfermidades, os organismos internacionais têm gerado um grande número de documentos contendo recomendações de linhas de atuação, para que sejam alcançados certos objetivos, sendo eles resumidos em quatro:

1. vigilância;
2. pesquisa e desenvolvimento;
3. prevenção e controle e
4. adequação de infra-estrutura².

Quando se pensa em melhorar a capacidade dos serviços de saúde pública para a vigilância epidemiológica, verifica-se que há uma pequena estrutura disponível no País e que a sua otimização requer integração das

instituições e esforços combinados entre profissionais de muitas áreas, particularmente médicos e médicos veterinários, além de criatividade.

Justificativa para uma proposta de vigilância das encefalites eqüina

Os eqüinos apresentam grande susceptibilidade a diferentes agentes virais, podendo, portanto, ser utilizados como indicadores, ou mesmo sentinelas, da circulação de determinados vírus em uma área ou região. As doenças nestes animais, de uma forma geral, têm aumentado, principalmente em função do intenso trânsito destes animais.

Outro aspecto muito importante em relação aos eqüinos é a dificuldade que os veterinários clínicos têm quanto ao diagnóstico das causas de quadros neurológicos. O diagnóstico conclusivo é possível apenas com utilização de técnicas laboratoriais convencionais e de biologia molecular. Como exemplos destas doenças que possuem sintomatologia comum podem ser citadas as encefalites eqüinas, a raiva, a toxoplasmose, a herpesvirose as intoxicações, a fusariose, a clostridiose, a Febre do Nilo Ocidental etc.

Associado a estes fatores, há um relaxamento dos regulamentos sanitários, tendo em vista a priorização das normas direcionadas ao comércio internacional de bovinos e de seus subprodutos.

As encefalites eqüinas são doenças infecto-contagiosas zoonóticas, de caráter agudo, causadas por vírus da família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*, com uma grande variedade de hospedeiros e reservatórios, incluindo aves e mamíferos, e que apresentam intenso tropismo pelo sistema nervoso central³.

Ao gênero *Alphavirus* pertencem três espécies de vírus causadores de encefalites eqüinas: *Eastern equine encephalitis virus* (EEEV), *Western equine encephalitis virus* (WEEV) e *Venezuelan equine encephalitis virus* (VEEV) ⁴. As doenças causadas – denominadas encefalite eqüina do leste (EEL), encefalite eqüina do oeste (EEO) e encefalite eqüina venezuelana (EEV) – receberam esta denominação de acordo com a localização de sua primeira identificação.

Os agentes causais são RNA-vírus, de cadeia simples, não segmentados, de sentido positivo, esféricos, com 60-70 nm de diâmetro, apresentando envelope com projeções (espículas de glicoproteína) ⁴. Possuem cinco proteínas estruturais (C, E3, E2, 6K e E1), sendo a E1 a mais conservada e a E2, aquela que apresenta maior polimorfismo intra e interespecífico⁴.

Na classificação internacional dos arbovírus, estes eram classificados como arbovírus do grupo A. As encefalites eqüinas estão restritas ao continente americano e, independente do tipo, induzem à mesma sintomatologia em eqüinos infectados: conjuntivite, febre; alterações de reflexo; andar em círculo; os animais tentam aumentar seu apoio e, quando caem, apresentam movimentos de pedalagem, paralisia e morte. Em humanos, a doença se instala de forma súbita, com febre, dor de cabeça, conjuntivite, vômitos e letargia, progredindo rapidamente para delírio e coma. Os sinais nervosos consistem em rigidez de nuca, convulsões e reflexos alterados.

A encefalomielite eqüina do leste (EEL) foi a primeira a ser detectada, em eqüinos da região leste dos Estados Unidos (Massachusetts), em 1831. Este foco foi o maior que ocorreu em humanos, com 38 casos³. É a que apresenta maior letalidade em eqüinos e humanos, 80% a 90% e 65%, respectivamente. É freqüente um curso bifásico, ou seja, a febre, a dor de cabeça e o vômito persistem por dois dias, há uma aparente recuperação e depois uma súbita e fulminante encefalite. Em sobreviventes desta encefalite é freqüente, também, o aparecimento de seqüelas como o retardo mental, convulsões e a paralisia.

O ciclo de transmissão da EEL se apresenta com um ciclo básico silvestre (entre aves silvestres), envolvendo a participação de mosquitos do gênero *Culex* e um segundo ciclo em pássaros locais, do qual participam mosquitos dos gênero *Aedes*. O homem e o eqüino são hospedeiros acidentais e não contribuem para a manutenção dos vírus.

A distribuição do vírus da EEL no continente americano é apresentada na Figura 1, havendo quatro grupos antigênica e geneticamente distintos. No Brasil, a pesquisa de anticorpos e o isolamento viral permitiram identificar Estados nos quais já há circulação viral, demonstrados na Figura 2.



Figura 1. Distribuição da encefalite equina do leste nas Américas⁹.



Figura 2. Distribuição da encefalite eqüina do leste no Brasil.

O Estado de São Paulo é o que tem realizado o maior número de isolamentos e identificação de vírus da encefalite eqüina do leste em eqüinos, com trabalhos realizados, principalmente, por Carneiro (1937)⁵; Nilsson & Sugay (1962)⁶ e Kotait *et al.* (1992)⁷, sendo que a presença de anticorpos em humanos foi bem estudada por Iversson *et al.* (1982)⁸, ao estudar humanos com quadro de encefalite no Vale do Ribeira, em período pós-epidemia da encefalite do Rocio.

O vírus da EEO foi isolado em 1938, na região oeste dos Estados Unidos. Há identificação de diversos subtipos, porém, só o subtipo clássico possui importância epidemiológica, cuja distribuição está demonstrada na Figura 3. Sua letalidade em eqüinos é de 20% a 30%, podendo chegar a 50%. Em humanos é de 3% a 4%³. A sintomatologia em eqüinos e em humanos é semelhante àquela determinada pela infecção com o EEL.



Figura 3. Distribuição da encefalite eqüina do oeste nas Américas¹⁰.

A atividade vírica máxima acontece no início do verão e o ciclo básico tem como reservatórios naturais as aves e os pássaros silvestres, que apresentam viremia com títulos altos, suficientes para infectar vetores, principalmente do gênero *Culex*. Humanos e eqüinos são hospedeiros acidentais, que apresentam viremia com títulos baixos.

O vírus da EEO já foi isolado no Brasil, em vetores, na Floresta da Tijuca, no Rio de Janeiro¹¹, e em algumas oportunidades foram encontrados anticorpos em eqüinos e humanos ⁸.

O vírus da encefalomielite eqüina venezuelana, ou o complexo venezuelano, é uma reemergência com um caráter “explosivo”, envolvendo geralmente muitos humanos. São classificados seis subtipos (de I a VI), sendo que algumas variantes são chamadas de epizoóticas e outras de enzoóticas. As do subtipo I são denominadas IAB, IC, ID, IE e IF e a do subtipo III são denominadas IIIA, IIIB, IIIC e IIID. Até alguns anos apenas duas variantes eram consideradas epizoóticas (IAB e IC)¹². Mais recentemente a cepa IE passou a ser associada a surtos em eqüinos e humanos, demonstrando a alteração da virulência de uma cepa conhecida como avirulenta para eqüinos. Estes surtos ocorreram em Chiapas e Oaxaca (México), apresentando mortalidade de até 50% dos animais ¹³.

A Figura 4 apresenta a distribuição conhecida dos subtipos dos vírus da encefalomielite eqüina venezuelana.

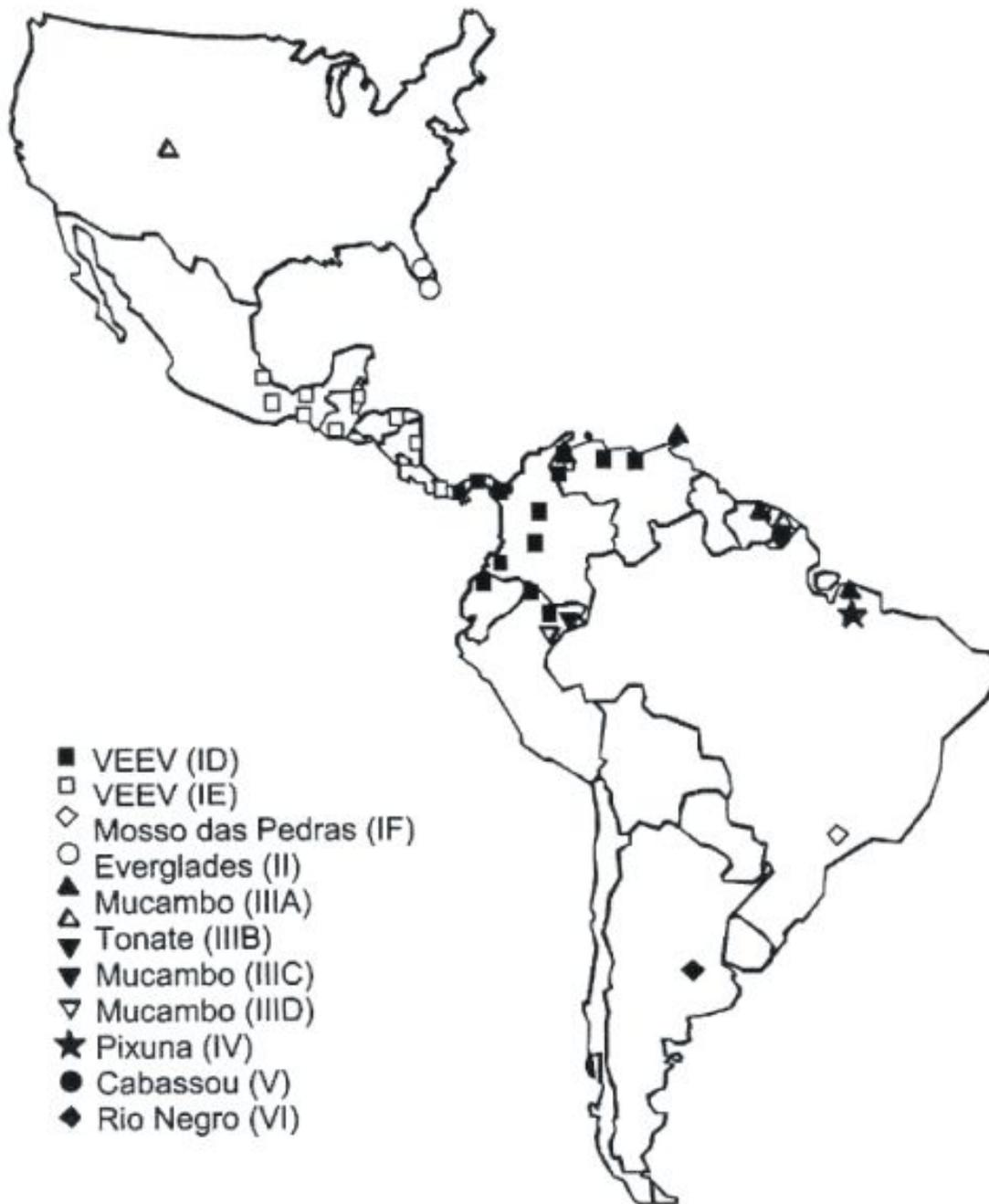


Figura 4. Mapa mostrando a distribuição conhecida dos vírus pertencentes ao complexo da encefalomielite eqüina venezuelana. Subtipos são indicados em parêntesis¹².

Os eqüinos, nesta enfermidade, são amplificadores dos vírus e há, ainda, relatos de isolamento destes subtipos em cerca de 30 outras espécies de mamíferos. Entre estes podem ser destacados isolamentos realizados em morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*) e em morcegos frugívoros *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata* e *Uroderma bilobatum*^{14, 15, 16}. Os morcegos podem atuar como hospedeiros alternativos para manutenção da circulação viral, especialmente quando muitas espécies de mamíferos silvestres terrestres adquirem imunidade.

O trabalho de maior repercussão realizado no Brasil foi o isolamento de vírus em *Culex* sp e morcego frugívoro *Carollia perspicillata*, realizado em Iguape, Estado de São Paulo¹⁵.

Encefalite ST. Louis e Febre do Nilo Ocidental

Há outras encefalites em eqüinos associadas a vírus da família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*, antigamente pertencentes à família *Togaviridae*. O vírus da Febre do Nilo Ocidental (FNO), causador de uma das principais doenças emergentes, foi isolado pela primeira vez em Uganda (África), em 1937, e até alguns anos foi considerada uma doença do Velho Mundo. Foi em 1999 que o vírus da FNO emergiu no Novo Mundo, sendo identificado como um agente causador de uma encefalite em humanos e eqüinos, em Nova York. A partir daí, teve uma difusão no sentido do oeste dos Estados Unidos e, posteriormente, em direção ao México e Caribe^{17, 18}.

Em 2005, foram identificados cavalos, nos Departamentos de Sucre e Córdoba/Colômbia, com anticorpos antivírus da FNO, sendo este o primeiro registro de atividade viral nas Américas¹⁹, até que, em abril de 2006, o vírus foi detectado na província de Buenos Aires, em eqüinos²⁰. A difusão do vírus da FNO vem se tornando um problema de saúde pública “desconcertante”, tendo em vista as diferenças apresentadas em ecossistemas tropicais e a provável atenuação do vírus ou outro fator ainda inexplicável.

No Brasil, desde 2002, têm sido realizados esforços no sentido de se estabelecer a vigilância epidemiológica ativa de aves migratórias, porém ainda não houve identificação de vírus ou de anticorpos, apesar da grande diversidade de aves migratórias existentes em algumas regiões¹⁸.

Vigilância das Encefalites Eqüinas no Estado de São Paulo

Com o objetivo de otimizar as atividades dos laboratórios de saúde pública, em particular dos de diagnóstico de raiva, e considerando a alta susceptibilidade dos eqüinos aos agentes virais já descritos, o Laboratório de Diagnóstico do Instituto Pasteur, ao longo dos dois últimos anos, vem pesquisando a presença de vírus das encefalites eqüinas em amostras de sistema nervoso central (SNC), provenientes de eqüídeos que apresentaram quadro clínico com comprometimento neurológico, que foram encaminhadas para o diagnóstico da raiva.

As amostras encaminhadas para o Laboratório de Raiva do Instituto Pasteur são submetidas às técnicas convencionais para o diagnóstico da raiva, recomendadas pela Organização Mundial da Saúde [imunofluorescência direta (IFD) e o isolamento viral em camundongos (IVC)]; caso o resultado tenha sido negativo para raiva e provocado mortalidade em camundongos, procede-se à pesquisa de vírus das encefalites eqüinas. Ressalta-se que nos últimos cinco anos, em média, 75% das amostras suspeitas de raiva de origem eqüina resultam negativas para a pesquisa de antígeno rábico.

Dada à baixa resistência dos *Alphavirus* às alterações de temperatura e de pH, tem sido importante o uso de técnicas de biologia molecular, como a RT-PCR, com o objetivo de identificar os vírus causadores das encefalites eqüinas, mesmo em amostras nas quais não foi possível o isolamento viral em camundongos. Os resultados deste tipo de procedimento têm sido promissores, uma vez que já foram identificados e/ou seqüenciados quatro isolados de vírus da encefalite eqüina tipo leste nos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo^{21, 22}.

A técnica de IFD, com conjugados específicos para o diagnóstico das encefalites eqüinas, também fornecerá importante contribuição ao diagnóstico diferencial para raiva, encefalites por *Alphavirus* e febre do Nilo Ocidental, uma vez que a emergência e reemergência destas enfermidades não podem esperar uma rede de laboratórios de diagnóstico específica para a vigilância epidemiológica.

É necessário ponderar sobre as dificuldades em se realizar a vigilância ativa e obtenção de sucesso com esta ação e a possibilidade de os laboratórios de diagnóstico de raiva tornarem-se uma excelente opção para a realização da vigilância passiva destas doenças. A vigilância ativa tem, na maioria das vezes, um custo proibitivo e requer uma boa infra-estrutura dos serviços de saúde, tendo sido comparada, por alguns autores, como a procura “de uma agulha em um palheiro”²³.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Woolhouse MEJ, Gowtage-Sequeria S. Host range and emerging and reemerging pathogenus. **Emerg Infect Dis** 2005; 11(12):1842-7.
2. Schatzmayr HG. Viroses emergentes e reemergentes. **Cad. Saúde Pública** 2001; Rio de Janeiro, 17 (supl):209-13.
3. Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales. 3 ed. Washington, D.C. Organización Panamericana de la Salud, 2003. V.2, 425p.
4. Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, et al. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego, California, 2000.
5. Carneiro V. A encefalomielite infecciosa dos eqüídeos do Brasil. *Arq Inst Biol São Paulo* 1937; 8:115-34.
6. Nilsson MR & Sugay W. Ocorrência da encefalomielite eqüina em Itaporanga, Estado de São Paulo. *Arq Inst Biol São Paulo* 1962; 29:63-8.
7. Kotait I, Peixoto ZMP, Coimbra TLM, Cunha EMS, Queiroz LH, Macruz R *et al.* Isolamento e identificação do vírus da encefalomielite eqüina, tipo leste, em eqüinos do Estado de São Paulo, Brasil. *Arq Inst Biol São Paulo* 1992; 59:37-41.
8. Iversson LB, Travassos da Rosa APA, Travassos da Rosa J, Costa CS. Estudos sorológicos para pesquisa de anticorpos de arbovírus em população da região do Vale do Ribeira. III Inquérito em cohabitantes com casos de encefalite por Flavivírus Rocio. **Rev Saúde Publ** 1982; 16:160-70.
9. Weaver SC, Power AM, Brault AC. Molecular epidemiology studies of veterinary arboviral encephalitides. **Vet J** 1999; 157: 123-38.
10. Griffin DE. Alphaviruses. *In: Knipe DM, Howley PM. Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p.917-62.
11. Bruno Lobo GG, Bruno Lobo M, Travassos J, Pinheiro F, Pazin IP. Estudos sobre arbovirus III. Isolamento de um vírus sorologicamente relacionado ao subgrupo Western-Sindbis de um caso de encefalomielite eqüina ocorrido no Rio de Janeiro. *An Microbiol Rio de Janeiro* 1961; 9:183-95.
12. Weaver SE, Ferro C, Barrera R, Boshell J, Navarro JC. Venezuelan equine encephalitis. *Ann Ver Entomol* 2004; 49:141-74.
13. Gonzalez-Salazar D, Estrada-Franco JG, Carrara AS, Aronson JF, Weaver SC. Equine Amplification and Virulence of Subtype IE Venezuelan Equine Encephalitis Viruses Isolated during the 1993 and 1996 in Mexican Epizootics. **Emerg Infect Dis** 2003; 9(2):161-8.
14. Sanmartin C, Mackenzie RB, Trapido H, Barreto P, Mullamax CH, Gutierrez E, Lesmes C. Encefalitis equina Venezolana en Colombia. **Bol Ofic Sanit Panam** 1967; 74:108-37.
15. 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.
16. 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(6):1260-72.
17. 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(8):1167-73.
18. Komar N & Clark GC. West Nile Virus activity in Latin America and the Caribbean. **Rev Panam Salud Publica** 2006 ; 19 :112-7.
19. Mattar S, Edwards E, Laguado J, González M, Alvarez J, Komar N. West Nile antibodies in Colombian horses. **Emerg Infec Dis** 2005; 9:1497-8.
20. Compte ME. West Nile Virus – Argentina: equines. Promed-mail. Archive number 20060423.1196. Disponível em: <http://www.promedmail.org> [2006 abr 24].
21. Brandão PE, Freitas PHB, Oliveira MV, Jerez JA, Carrieri ML, Kotait I. Detection of eastern equine encephalitis (*Togaviridae: Alphavirus*) in a outbreak of encephalitic disease in horse. *In: Virus: Reviews and Research/Sociedade Brasileira de Virologia* 2004 nov 26-29; São Pedro-SP. vol 09 supl 1.p.124.
22. 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/Sociedade Brasileira de Virologia* 2005 nov 22-25; Salvador. vol 10 supl 1.p.89.

23. Eidson M. "Neon Needles" in a Haystack: the advantages of passive surveillance for West Nile. Ann New York Acad Sci 2001; 951:38-53.
-

Correspondência/Correspondence to:

Ivanete Kotait

Instituto Pasteur

Av. Paulista, 393 – Cep: 01311-000

E-mail:



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

Fale conosco

