

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA

RAIVA BOVINA: REVISÃO DE LITERATURA

Autora: Gabriela Behnck dos Santos
Acadêmica de Medicina Veterinária

PORTO ALEGRE

2018/2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA

RAIVA BOVINA: REVISÃO DE LITERATURA

Autora: Gabriela Behnck dos Santos
Trabalho apresentado à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para a
obtenção da graduação em Medicina
Veterinária.

Orientador: João Batista Souza Borges

PORTO ALEGRE

2018/2

Aos meus pais, que sempre foram minha inspiração de força e me apoiaram de todas as formas possíveis e impossíveis em todas as minhas decisões.

Obrigada por estarem ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Início agradecendo aos meus pais, que foram essenciais à minha formação, sempre me apoiaram e nunca me deixaram desistir do meu sonho que era um pouco deles também. Obrigada por estarem sempre dispostos a me ajudar com o que fosse necessário e sem medir esforços.

Aos meus amigos, os de infância, aqueles que conheci no pré-vestibular e ao Igor, meu melhor amigo, por deixarem minha vida mais leve, serem um ponto de apoio e por me ajudarem para que continuasse firme nos momentos mais difíceis.

Às amigas que fiz durante a graduação, que compartilharam comigo todos os sentimentos, da alegria ao desespero, que a faculdade de veterinária nos proporcionou. À Giulia e Anna Bettina especialmente, que iniciaram a caminhada comigo e estaremos finalizando juntas e mais unidas do que nunca.

Aos professores pelo conhecimento transmitido, em especial aos homenageados e paraninfo da ATMV 2019/1 e ao meu orientador. Professores como vocês são, muitas vezes, o que nos mantém firmes nessa jornada e nos fazem acreditar na profissão.

RESUMO

Todos os anos, milhares de centenas de dólares são perdidos no mundo todo em consequência às doenças do sistema nervoso central de bovinos, sendo a raiva a mais prevalente no Brasil. Com capacidade de infectar todos os mamíferos, inclusive o homem, a raiva é causada por um vírus do gênero *Lyssavirus*. A raiva nos bovinos produz sinais clínicos como incoordenação, decúbito lateral, paralisia dos membros pélvicos, salivação e decúbito esternal, muito semelhantes a sintomatologia provocada por outras doenças que acometem o sistema nervoso central. Por isso, o diagnóstico laboratorial é indispensável e, é essencial que seja realizado de forma rápida para que se coloquem em prática as condutas necessárias controlando e prevenindo que a doença se dissemine nos rebanhos. A vacinação é o método recomendado pelo Programa Nacional de Controle da Raiva nos Herbívoros (PNCRH) na prevenção e, também, no controle da raiva bovina, visto que é indicada nas áreas endêmicas e na ocorrência de surtos. Além disso, o programa preconiza o controle dos morcegos hematófagos como o *Desmodus rodontus*, principal transmissor da doença aos bovinos, pelos métodos seletivos diretos ou indiretos. A raiva é uma doença de notificação compulsória e, por essa razão, a existência do PNCRH é fundamental atuando também em ações educativa e de conscientização.

Palavras-chave: Bovinos. Raiva. Morcegos. Diagnóstico. Prevenção. Programa Nacional de Controle da Raiva nos Herbívoros.

ABSTRACT

*Every year, thousands of dollars are lost worldwide due to central nervous system diseases of cattle, and bovine Rabies being the most prevalent in Brazil. With the ability to infect all mammals, including humans, rabies is caused by a virus of the genus Lyssavirus. In cattle, Rabies produces clinical signs such as incoordination, lateral decubitus, paralysis of the pelvic limbs, salivation and sternal recumbency, very similar to the signs caused by other diseases that affect the central nervous system. Therefore, the laboratory diagnosis is important and it is essential to be determined in a short time so necessary actions can be improved, controlling and preventing the disease from spreading to the herds. The vaccine is the recommended method by the Programa Nacional para Controle da Raiva em Herbívoros (PNCRH) in the prevention and control of bovine Rabies, indicated in endemic areas and outbreaks occurrence. In addition, the Program recommends the control of hematophagous bats such as *Desmodus rodontus*, the main transmitter of the disease to cattle, by direct or indirect selective methods. Rabies is a compulsory notification disease and, for this reason, the existence of the PNCRH is fundamental, also acting in educational and awareness actions.*

Key-words: *Bovine. Rabies. Bats. Diagnosis. Prevention. Programa Nacional de Controle da Raiva nos Herbívoros.*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 DESENVOLVIMENTO	9
2.1 Etiologia da raiva	9
2.2 Aspectos epidemiológicos	10
2.3 Importância econômica	11
2.4 Patogenia	12
2.5 Sinais clínicos	12
2.6 Necropsia	13
2.7 Métodos diagnósticos	13
2.7.1 Histopatológico	15
2.7.2 Imunofluorescência direta	15
2.7.3 Isolamento viral.....	16
2.7.4 Imuno-histoquímica	16
2.8 Prevenção	16
3 CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	20

1 INTRODUÇÃO

As doenças do sistema nervoso central de bovinos compreendem um grupo de enfermidades importantes. Somente a raiva bovina é responsável, em todo o mundo, por um prejuízo anual de centenas de milhões de dólares (SANCHES *et al.*, 2000).

A raiva é uma doença infecciosa causada por um vírus da família dos rabdovírus podendo também infectar humanos, portanto, é considerada uma zoonose. De acordo com Pietzschke (1999), a raiva está disseminada por todo o mundo exceto na Oceania e, em alguns países das Américas, da Europa e da Ásia encontram-se livres da doença. No Brasil, a raiva pode ser considerada endêmica, em diferentes graus de acordo com a região geopolítica, com notificação de 34.044 mil casos em apenas 10 anos, entre 1995 e 2005, em diferentes espécies animais (BRASIL, 2017). Segundo Rodriguez *et al.* (2012) na América do Sul, o principal transmissor da raiva bovina é o morcego hematófago *Desmodus rotundus* e a transmissão acontece pela penetração do vírus contido na saliva do transmissor infectado, principalmente pela mordedura. A raiva pode se apresentar na forma furiosa ou na forma paralítica. A forma paralítica é mais comum em bovinos, consequente a lesões na medula espinhal, tronco encefálico e cerebelo (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007).

Os principais sinais clínicos em bovinos incluem depressão, incoordenação, paresia dos membros, principalmente nos membros pélvicos, decúbito esternal e lateral, opistótono e morte. As lesões de raiva são geralmente limitadas ao sistema nervoso central. Os achados histopatológicos mais importantes são meningoencefalomielite linfoplasmocitária e ganglionite com corpúsculos de inclusão viral (PEDROSO *et al.*, 2009).

Um sistema de diagnóstico é essencial para o monitoramento da evolução da infecção de qualquer doença e suas interações com o hospedeiro. Quanto à raiva, a importância do diagnóstico é ainda mais evidente uma vez que a correta identificação da infecção tem sérias implicações na profilaxia e tratamento de pessoas expostas (TEIXEIRA *et al.*, 2008). Os achados durante a necropsia em casos de raiva não são característicos. A confirmação do diagnóstico pode ser feita pela observação de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos (corpúsculo de Negri) no exame histopatológico sendo que, o teste diagnóstico padrão é a imunofluorescência direta, no entanto, outros testes podem ser utilizados como a inoculação em camundongos e a imuno-histoquímica.

Um estudo realizado por Santos *et al.* (2018) concluiu que as enfermidades que afetam o sistema nervoso central de bovinos apresentam diferenças epidemiológicas importantes, que

devem ser levadas em consideração no diagnóstico diferencial e para a tomada de medidas preventivas. A prevenção contra raiva é baseada na vacinação dos animais e no controle do morcego *Desmodus rotundus*. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) instituiu o plano para controle de raiva, o Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH), que direciona ações estratégicas, como a vacinação e o controle dos morcegos, para a prevenção e controle da raiva em bovinos e equinos no país. A vacinação profilática de bovinos não é obrigatória em todo o país e cada estado tem sua própria legislação. No entanto, mais de 40 milhões de bovinos têm sido vacinados anualmente desde 2002 (BRAGA *et al.*, 2014).

Além da vacinação, o controle de morcegos hematófagos é muito importante para a prevenção e o controle da raiva bovina. De acordo com Batista, Franco e Roehe (2007), são geralmente empregados métodos baseados na aplicação de uma pasta no morcego ou no bovino espoliado, contendo uma substância anticoagulante. Os métodos de controle devem ser seletivos, direto ou indireto, visando atingir exclusivamente os morcegos hematófagos, sem causar danos a nenhuma outra espécie.

Devido a grande importância econômica e em saúde pública, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão de literatura do assunto raiva bovina, principalmente, a cerca do diagnóstico e prevenção visto que, são recursos imprescindíveis para o controle da doença.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Etiologia da raiva

Na ordem *Mononegavirales* estão reunidos os vírus compostos por RNA de fita simples, não segmentado e com polaridade negativa (BRASIL, 2009). A família *Rhabdoviridae* está subdividida em três grupos de vírus de mamíferos: *Vesiculovirus*, *Ephemerovirus* e *Lyssavirus*. O gênero *Lyssavirus* é subdividido em sete genótipos e o vírus da raiva é classificado como genótipo “1”, sendo o protótipo do gênero (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007). Apesar de ser considerado muito estável genética e antigenicamente, o vírus da raiva apresenta diferenças entre amostras isoladas de diferentes espécies, as quais são denominadas “variantes” (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

A morfologia do vírus é característica, em forma de bala de revólver, diâmetro médio de 75nm e comprimento de 100nm a 300nm, variando de acordo com a amostra (BRASIL, 2009). Os vírions são compostos por uma estrutura helical interna que contém o genoma, a proteína do nucleocapsídeo, a fosfoproteína e a polimerase viral envolvem o RNA genômico e constituem o ribonucleocapsídeo (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). O genoma viral é formado por uma cadeia de RNA de fita simples que codifica cinco proteínas, na seguinte ordem: a nucleoproteína (N), a fosfoproteína (P), a proteína da matriz (M), a glicoproteína (G) e a RNA polimerase RNA viral-dependente (L) (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007). A glicoproteína G é a principal encarregada pela indução de anticorpos neutralizantes, também é responsável pela adsorção do vírus à célula hospedeira e pela união do envelope viral à membrana citoplasmática. A expressão da glicoproteína G parece estar inversamente associada à inibição da atividade da proteína N no transporte axoplásmico e à indução de apoptose, ou seja, quanto maior a expressão de G em determinada amostra viral, maior inibição do transporte viral nos neurônios e mais apoptose, resultando em menor patogenicidade (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007).

A infectividade dos rabdovírus é moderadamente estável em condições ambientais, especialmente sob pH alcalino. No entanto, o vírus da raiva é termolábil e sensível à radiação solar e ultravioleta (RODRIGUEZ *et al.*, 2007) e, pouco resistente aos agentes químicos (éter, clorofórmio, sais minerais, ácidos e álcalis fortes) (BRASIL, 2009). A -70°C ou temperaturas mais baixas, o vírus se mantém viável indefinidamente (BATISTA; FRANCO; ROEHE; 2007).

O período de incubação pode variar dependendo de fatores como capacidade invasiva, patogenicidade, carga viral do inóculo inicial, ponto de inoculação (quanto mais próximo do sistema nervoso central, menor será o período de incubação), idade, imunocompetência do animal, entre outros (BRASIL, 2009). Geralmente, o período de incubação é de 14 dias a 12 semanas, contudo já foram relatados períodos superiores à um ano (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). Louis Pasteur, por meio de várias passagens do vírus da raiva em coelhos, foi capaz de “fixar” o período de incubação de uma amostra em cerca de sete dias. Isso deu origem ao termo “vírus fixo”, que se refere às amostras derivadas daquelas utilizadas por Pasteur e ainda hoje usadas como padrões e presentes na maioria dos laboratórios (BATISTA; FRANCO; ROEHE; 2007).

2.2 Aspectos epidemiológicos

Além dos problemas causados à saúde pública, a raiva traz sérios prejuízos econômicos à pecuária nacional, e tem sido responsável, nos últimos dez anos, por mais de 23.000 casos notificados em herbívoros (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). Contudo, no Brasil, a principal espécie animal transmissora da raiva ao ser humano continua sendo o cão, embora os morcegos estejam cada vez mais aumentando a sua participação, podendo ser os principais responsáveis pela manutenção de vírus no ambiente silvestre (BRASIL, 2009). A transmissão da raiva está fortemente relacionada à presença de morcegos, a concentração de bovinos, a redução do habitat do morcego hematófago, a mudanças climáticas e as alterações ambientais que podem causar modificações nas movimentações dos morcegos na busca por abrigo, alimento e fontes de água (RIO GRANDE DO SUL, 2016). A transmissão da raiva se dá pela penetração do vírus contido na saliva do animal infectado, principalmente pela mordedura. A transmissão pela arranhadura e lambadura de mucosas é rara mas também podem ocorrer (BRASIL, 2005). Diferentes espécies de morcegos e outros animais selvagens podem ser reservatórios do vírus, sendo *Desmodus rotundus* o principal responsável pela transmissão da infecção e os herbívoros domésticos os principais animais acometidos (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). Isso porque, segundo um estudo realizado por Heinemann *et al.* (2002), no Brasil, a variante de vírus isolada em bovinos é a mesma isolada dos morcegos da espécie *Desmodus rotundus*.

Doença com capacidade de infectar todos os mamíferos, a raiva é uma encefalite viral aguda que apresenta quatro ciclos de transmissão: urbano, aéreo, rural e silvestre. O ciclo urbano refere-se à raiva em cães e gatos domésticos; ciclo aéreo refere-se à raiva em

morcegos; ciclo rural refere-se à raiva dos herbívoros, principalmente equinos e bovinos, e no qual o principal vetor é o morcego hematófago. O termo silvestre refere-se à raiva associada à espécies silvestres, e pode englobar o ciclo aéreo (RODRIGUEZ *et al.*, 2007) Os herbívoros são hospedeiros acidentais do vírus da raiva, porque, apesar de participar da cadeia epidemiológica da raiva rural, contribuem somente como sentinelas à existência do vírus em determinada região (BRASIL, 2009).

Com exceções, principalmente em algumas ilhas, o vírus da raiva é encontrado em todo o mundo. Alguns países, incluindo o Reino Unido, a Irlanda, a Suécia, a Noruega, a Islândia, o Japão, a Austrália, a Nova Zelândia, Singapura, a maior parte da Malásia, Papua Nova Guiné, as ilhas do Pacífico e algumas ilhas da Indonésia estão livres do vírus da raiva clássico há muitos anos (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2009). No Brasil, a raiva dos herbívoros pode ser considerada endêmica e em diferentes graus, de acordo com a região (BRASIL, 2009). Um levantamento com 23.640 amostras realizado no Rio Grande do Sul por Teixeira *et al.* (2008) mostrou que, das 739 amostras positivas para raiva, a maioria, 656 (88,7%) eram de origem bovina. De acordo com o estudo elaborado por Santos *et al.* (2018) a raiva, cujo diagnóstico foi confirmado pela imunofluorescência direta e inoculação em camundongo, foi a enfermidade mais frequente com aproximadamente 70% dos casos de doenças virais e 29,6% de todos os casos de bezerros com sinais nervosos estudados.

A raiva tende a ser sazonal, sobretudo, devido ao comportamento sexual dos morcegos, particularmente a disputa entre machos pelo harém, ao longo da primavera. Durante as disputas ocorrem agressões e o macho dominante faz os demais procurarem outras colônias, levando consigo o vírus e com isso, disseminam a raiva entre morcegos. Por isso também, além de sazonal, a raiva nos herbívoros tende a acontecer de forma cíclica, aproximadamente a cada sete anos, pois as populações de morcegos são dizimadas pelo vírus ocorrendo declínio e, em seguida, repovoamento e reinfecção (LEMOS, 1998).

2.3 Importância econômica

Estima-se que a raiva bovina cause prejuízos anuais de centenas de milhões de dólares em toda a América Latina, provocados pela morte de milhares de bovinos, além dos gastos indiretos que ocorrem com a vacinação de milhões de animais e inúmeros tratamentos pós-exposição (sorovacinação) de pessoas que mantiveram contato com animais suspeitos (BRASIL, 2009). No Rio Grande do Sul em 2017, foram diagnosticados laboratorialmente 39

casos de raiva animal, distribuídos em 24 municípios, dos quais 32 diagnosticados em bovinos (RIO GRANDE DO SUL, 2016). Estes números podem ser ainda maiores devido à falta de diagnóstico e de notificação (BRASIL, 2009).

2.4 Patogenia

No hospedeiro infectado, o vírus pode replicar nas células musculares, próximas ao local da inoculação, antes de invadir o sistema nervoso central (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). Porém, eventualmente, pode ocorrer a entrada direta do vírus no sistema nervoso central, sem a prévia replicação no músculo (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007). Durante o período de incubação, antes do comprometimento do sistema nervoso central, a presença do vírus não pode ser detectada por métodos convencionais de diagnóstico e alguns pesquisadores designaram este período como “eclipse” viral (BRASIL, 2009). O vírus pode utilizar uma combinação de sistemas para atingir o sistema nervoso central, envolvendo o fluxo axoplásmico retrógrado (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). Após a infecção do sistema nervoso central, o vírus se dissemina para os tecidos não neuronais, via nervos periféricos de forma centrífuga, distribuindo-se por todo o organismo (BATISTA; FRANCO; ROEHE; 2007). O vírus replica e é excretado nas glândulas salivares, principal mecanismo de disseminação e perpetuação do mesmo na natureza (RODRIGUEZ *et al.*, 2007).

2.5 Sinais clínicos

A apresentação clínica da raiva é muito variável na grande maioria das espécies acometidas. As formas paralítica e furiosa são as apresentações clássicas da doença, e são consequentes ao local das lesões no sistema nervoso central (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007). Nos bovinos, o sinal inicial é o isolamento, o animal se afasta do rebanho, apresentando certa apatia e perda do apetite (BRASIL, 2009). O início dos sinais clínicos é chamado de fase prodrômica e acontece em todas as espécies de animais acometidos (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007). Conforme os resultados do estudo realizado por Pedrosa *et al.* (2009), o curso clínico varia de três a sete dias sendo a forma paralítica a manifestação clínica observada nos bovinos e, se caracteriza por incoordenação motora, movimentos de pedagem, paresia e paralisia dos membros pélvicos, decúbito lateral e esternal, opistótono e morte. Relatou-se também sialorréia, agressividade e nistagmo. Segundo Batista; Franco e Roehe; (2007) a mandíbula é o local onde a paralisia é mais

notável e a morte se dá por paralisia dos músculos respiratórios. No estudo realizado por Lima *et al.* (2005), observou-se que os sinais clínicos mais frequentemente encontrados foram, em ordem decrescente, incoordenação, decúbito lateral, paralisia dos membros pélvicos, salivação e decúbito esternal.

Não se sabe precisamente qual é o período em que os herbívoros são capazes de transmitir a doença. Ainda que a maioria das espécies de herbívoros, principalmente os domésticos, não possuam uma dentição adequada capaz de causar ferimentos profundos, há relatos de raiva transmitida aos seres humanos por herbívoros. Por isso, é recomendado que nunca se introduza as mãos na boca de qualquer espécie animal com sinais nervosos sem o uso de equipamentos de proteção adequados (BRASIL, 2009).

2.6 Necropsia

Em geral, as lesões de raiva são restritas ao sistema nervoso central. Os achados histológicos são variáveis e, distribuem-se principalmente no tronco encefálico, cerebelo e medula espinhal, hipocampo e gânglios trigêmeos podendo ser, inclusive, discretas ou ausentes (LIMA *et al.*, 2005). O exame histopatológico do encéfalo de animais que morrem devido à infecção pelo vírus da raiva revela meningite e encefalomielite não-supurativa. Podem ainda ser detectados os Corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos eosinofílicos (corpúsculos de Negri), considerados patognomônicos da infecção (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). De acordo com o estudo de Pedrosa *et al.* (2009), os Corpúsculos de Negri foram observados principalmente nos neurônios do gânglio trigêmeo e neurônios de Purkinje do cerebelo. Além disso, segundo Lima *et al.* (2005), as lesões podem ser caracterizadas por acúmulos perivascularres com infiltrado celular, principalmente de linfócitos, e ocasionalmente, em macrófagos e plasmócitos, microgliose, às vezes de forma acentuada, graus variáveis de degeneração neuronal e ganglioneurite e necrose neuronal.

2.7 Métodos diagnósticos

Algumas doenças devem integrar o diagnóstico diferencial da raiva como a leucose enzoótica bovina, a listeriose, a enterotoxemia, a forma cerebral da babesiose, a febre catarral maligna, a encefalopatia espongiiforme bovina, a meningoencefalite granulomatosa pelo consumo de ervilhaca e a poliencfalomalácia (CLAUS; ALFIERI; ALFIERI, 2002; RISSI *et al.*, 2006; SANCHES *et al.*, 2000; RECH *et al.* 2004).

O diagnóstico da raiva não deve ser baseado apenas em observações clínicas, especialmente porque outras enfermidades podem originar sinais semelhantes (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). A observação clínica permite levar somente à suspeita de raiva, pois os sinais da doença não são característicos e podem variar entre as espécies ou entre indivíduos da mesma espécie (BRASIL, 2009). Associado ao exame clínico, é fundamental a análise da situação epidemiológica no local, a história da infecção na região, a presença de morcegos hematófagos e a possibilidade da introdução de animais provenientes de áreas endêmicas. A associação desses dados permitirá um diagnóstico presuntivo, que deve ser confirmado por testes laboratoriais (RODRIGUEZ *et al.*, 2007).

Metodologicamente, o diagnóstico da raiva compreende um conjunto de técnicas padronizadas, que são utilizadas na maioria dos laboratórios (TEIXEIRA *et al.*, 2008). O diagnóstico laboratorial de raiva bovina é realizado na maioria dos casos por meio do método da imunofluorescência direta em tecido cerebral, geralmente seguido por um ensaio biológico confirmativo, o teste de inoculação em camundongo. Embora, o teste de inoculação em camundongo seja altamente sensível, confiável e fácil de ser realizado, o tempo necessário para os resultados definitivos são em média de 21 a 30 dias e as restrições e questões a cerca do uso de animais estão levando à sua substituição gradual pelo isolamento viral (KANITZ *et al.*, 2015). Outros testes como o histopatológico e, mais recentemente, a imuno-histoquímica também podem ser realizados.

As técnicas laboratoriais são aplicadas preferencialmente nos tecidos do sistema nervoso central, removidos durante a necropsia. São materiais de escolha para o diagnóstico da raiva fragmentos do hipocampo, tronco cerebral, tálamo, córtex, cerebelo e medula oblonga (BRASIL, 2009). Quando não há a possibilidade de se abrir com segurança a caixa encefálica para a retirada dos fragmentos do sistema nervoso central, a cabeça do animal pode ser enviada ao laboratório. As amostras deverão ser remetidas sob refrigeração porém, em locais onde não há condições de manter o material refrigerado, recomenda-se a imersão de fragmentos de tecido em Líquido de Vallée (glicerina 50% tamponada com tampão fosfato), nesse líquido, o vírus se mantém detectável por vários dias. Os cuidados na remoção do encéfalo, como o uso de equipamentos de proteção individual, são importantes para evitar acidentes e inoculações acidentais com material contaminado (BATISTA; FRANCO; ROEHE; 2007).

No Rio Grande do Sul, o diagnóstico laboratorial da raiva é oficialmente realizado no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Departamento de Diagnóstico e

Pesquisa Agropecuária da Secretaria de Agricultura, Pecuária e Irrigação (DDPA/Seapi) onde se utiliza o método da imunofluorescência direta.

2.7.1 Histopatológico

O primeiro método laboratorial rápido proposto para o diagnóstico de raiva foi a detecção de corpúsculos de Negri através da histopatologia, método este descrito por Adelchi Negri há mais de um século (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). No entanto, de acordo com Batista; Franco e Roehle; (2007), essa prova apresenta sensibilidade e especificidade baixas, pois os corpúsculos são detectados em média em 60% a 70% dos casos positivos. Assim como demonstrou o estudo realizado por Pedroso *et al.* (2009), em que corpúsculos de inclusão viral foram encontrados em 86,6% dos casos positivos para raiva na imuno-histoquímica, principalmente no pericário dos neurônios, tanto dos normais, quanto dos degenerados e necróticos, mas também nos axônios e dendritos.

2.7.2 Imunofluorescência direta

O teste mais amplamente utilizado e, o único teste oficial reconhecido pelo MAPA, para o diagnóstico da raiva é de imunofluorescência direta, recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela *World Organisation for Animal Health* (OIE) (BRASIL, 2009). Atualmente, a imunofluorescência direta em tecidos refrigerados ou congelados é considerada a técnica de escolha para o diagnóstico da raiva pela sua rapidez e acurácia (LANGOHR *et al.*, 2003). A imunofluorescência direta consiste em realizar impressões de tecido fresco sobre lâminas de microscopia e permite a obtenção do resultado em poucas horas. Tanto a sensibilidade e quanto a especificidade são próximas de 100% (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). A técnica deve ser realizada em amostras frescas refrigeradas e, por consequência disso, frequentemente é inviável sua execução a campo ou quando é necessário percorrer longas distâncias até o laboratório. No entanto, pode ser aplicada em amostras conservadas em glicerina, após repetidas operações de lavagem (BRASIL, 2009). Segundo o estudo realizado no Rio Grande do Sul por Teixeira *et al.* (2008) os perfis antigênicos detectados são bastante estáveis, pois, mesmo após uma passagem do vírus no hospedeiro acidental (tal como é o caso de amostras de origem de morcegos hematófagos em bovinos) ou inoculação experimental em camundongos, os resultados dos testes se mantêm inalterados, podendo assim identificar a fonte de infecção.

2.7.3 Isolamento viral

O isolamento viral detecta a infecciosidade da amostra, através da inoculação da suspensão de tecidos extraídos da amostra suspeita, em sistemas biológicos, permitindo o “isolamento” do agente. É utilizado juntamente ao teste de imunofluorescência direta, conforme preconiza a OMS (BRASIL, 2009). Para reduzir a utilização de animais de biotério no diagnóstico, há uma tendência para a substituição da inoculação em camundongos pela inoculação em cultivos celulares. Diversas linhagens celulares são suscetíveis ao vírus da raiva, sendo as células *baby hamster kidney* (BHK) e as células de neuroblastomas (N2A) as mais utilizadas (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). O estudo realizado por Kanitz *et al.* (2015) demonstrou que o isolamento viral nas células N2A e BHK apresentou sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos de 100% em uma única passagem de 72h, detectando inclusive uma amostra positiva perdida pelo método da imunofluorescência direta.

2.7.4 Imuno-histoquímica

Esta técnica consiste na detecção do antígeno rábico através da marcação de anticorpo. A imuno-histoquímica é o teste indicado quando não há a possibilidade de se conservar a amostra em refrigeração, pois a técnica permite a fixação em formol o que diminui o risco de alterações autolíticas que comprometam o diagnóstico. Além disso, a sensibilidade e especificidade são próximas a 100% como mostrou o estudo realizado por Pedroso *et al.* (2009).

2.8 Prevenção

A prevenção da raiva consiste, fundamentalmente, na vacinação e no controle de reservatórios (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). A raiva dos bovinos é controlada pela aplicação vacinal em animais de áreas endêmicas e pelo controle das populações de morcegos hematófagos (BATISTA; FRANCO; ROEHE; 2007).

O MAPA é responsável pela coordenação, normalização e supervisão das ações do PNCRH, por definir estratégias para prevenção e controle da raiva e o credenciamento de laboratórios para o diagnóstico de raiva. As Superintendências Federais da Agricultura (SFA)

coordenam e supervisionam as atividades de controle da raiva dos herbívoros nos estados brasileiros e, dispõem de um corpo técnico composto por profissionais habilitados para exercer as atividades de defesa sanitária animal. Em cada SFA existe um Serviço de Defesa Sanitária Agropecuária (Sedesa) que são encarregados pela execução das ações do PNCRH, como o cadastramento de propriedades rurais, o cadastramento e monitoramento de abrigos de morcegos hematófagos, a execução da vigilância em áreas ou propriedades de risco e o atendimento aos focos da doença. Além disso, compete à Sedesa de cada estado realizar ações de educação sanitária, organização e participação da comunidade organizada em comitês municipais de sanidade animal, a promoção e a fiscalização da vacinação dos rebanhos, capacitação de recursos humanos e o fornecimento regular de informações ao MAPA sobre as ações desenvolvidas no estado para o controle da raiva dos herbívoros (BRASIL, 2009).

Para realização do diagnóstico da raiva, os laboratórios credenciados devem processar as amostras suspeitas enviadas para confirmação do diagnóstico de raiva, encaminhando para o diagnóstico diferencial as amostras negativas e informar imediatamente aos órgãos competentes quando houver resultados positivos (BRASIL, 2009).

A raiva é uma doença de notificação compulsória e cabe ao proprietário notificar o Serviço Veterinário Oficial quando houver suspeita de raiva, bem como a ocorrência de mordidas de morcegos hematófagos em seus animais. Da mesma maneira, os médicos veterinários autônomos são responsáveis por comunicar à autoridade sanitária constituída na região quando houver casos suspeitos de raiva (BRASIL, 2009)

A estratégia do PNCRH consiste em vigilância epidemiológica, orientação da vacinação dos herbívoros domésticos e o controle de morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus*, sempre que houver risco de transmissão da raiva aos herbívoros. A vigilância epidemiológica acontece a partir da identificação e monitoramento das áreas de risco. A forma de comportamento ecológico do *Desmodus rotundus* está condicionada a ocupação do espaço sendo que esse comportamento acontece conforme a disponibilidade de abrigo e alimento (BRASIL, 2009). De acordo com a Instrução Normativa nº 5, de 1º de março de 2002, a vacinação profilática dos herbívoros deve ser realizada com vírus inativado, na dosagem de 2ml por animal, de qualquer idade, aplicada por via subcutânea ou intramuscular, pelo proprietário. Em áreas de ocorrência de raiva, a vacina deve ser sistemática em bovídeos e equídeos com idade superior ou igual a três meses, deve-se aplicar duas doses com intervalo de 30 dias e reforço anual. Todos os animais vacinados deverão possuir atestado de vacinação anti-rábica expedido por um médico veterinário (BRASIL,

2002). A vacinação é uma medida de proteção que visa interromper o ciclo de transmissão entre animais domésticos e selvagens (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

No controle das populações de morcegos hematófagos são geralmente empregados métodos baseados na aplicação de uma pasta contendo uma substância anti-coagulante, especificamente a warfarina (BATISTA; FRANCO; ROEHE; 2007; BRASIL, 2009). O controle pode ser feito pelo método seletivo direto ou pelo método seletivo indireto. O método seletivo direto é realizado a partir da captura do morcego próximo a área de alimentação ou ainda próximos aos abrigos. No entanto, para captura dentro de abrigos, é necessário autorização do IBAMA. Os morcegos possuem hábito de higiene mútua, através de lambedura e, assim, o anti-coagulante atinge vários membros da colônia. Já no método seletivo indireto não há necessidade de capturar os morcegos. Sabendo que os morcegos voltam para se alimentar das mesmas feridas, a pasta anti-coagulante é aplicada ao redor do local das mordeduras. Contudo, neste método somente o morcego agressor é eliminado (BRASIL, 2009).

O método seletivo direto somente poderá ser praticado por técnicos, devidamente equipados, do serviço oficial, enquanto o método seletivo indireto deve ser efetuado pelos proprietários. Por isso, é fundamental que os produtores sejam orientados a incorporar o hábito de monitorar seus animais quanto à presença de lesões provocadas por morcegos hematófagos (BRASIL, 2009).

3 CONCLUSÃO

Das enfermidades que acometem o sistema nervoso central de bovinos, a raiva é a de maior ocorrência no Brasil. Por ser uma zoonose que pode atingir 100% de letalidade, é de grande importância para a saúde pública, além de causar prejuízos incalculáveis, o diagnóstico é parte imprescindível do controle e prevenção da raiva. Deve ser executado de forma rápida e mais precisa possível visando sempre identificar os focos da doença e aspectos epidemiológicos para o controle da sua disseminação entre os animais domésticos e selvagens.

As ações governamentais, como o PNCRH, também são ferramentas fundamentais para o controle e prevenção da raiva nos herbívoros. As ações educativas dos profissionais envolvidos com o programa devem incentivar a notificação de mordeduras e suspeitas de raiva ao Serviço veterinário oficial, a mortalidade de bovinos e campanhas de vacinações para raiva herbívora nas regiões de maior risco.

Mais estudos deveriam ser realizados com o objetivo de controlar a população de colônias de morcegos hematófagos em áreas de exploração de bovinos, já que sua proximidade é o principal fator de risco relacionado à raiva nos bovinos.

REFERÊNCIAS

BATISTA, H. B. C. R.; FRANCO A. C.; ROEHE P. M. Raiva: uma breve revisão. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, n. 2, p. 125-144, 2007. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/15959/9503>>. Acesso em: 13 out. 2018.

BRAGA, G. B. *et al.* Predictive qualitative risk model of bovine rabies occurrence in Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 113, n. 4, p. 536-546, Mar. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da raiva dos herbívoros e encefalopatia espongiforme bovina – EEB**. Brasília, DF, 5 jan. 2017. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/raiva-dos-herbivoros-e-eeb/RevisosobreRaiva2017.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da raiva dos herbívoros: manual técnico - 2009**. Brasília, DF, 2009. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/raiva-dos-herbivoros-e-eeb/MANUAL_RAIVAHORBIVOROS2009.pdf>. Acesso em: 13 out. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. Brasília: Ministério da saúde, 2005. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Guia_Vig_Epid_novo2.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2018

BRASIL. Secretária da Agricultura, Pecuária e Irrigação. Instrução Normativa nº 5, de 1º de março de 2002. Aprova as normas técnicas para o controle da raiva dos herbívoros domésticos. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2002. Disponível em: <<http://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201803/27113625-pncrh-in-5-2002.pdf>>. Acesso em: 27 nov. 2018.

CLAUS, M. P.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Herpesvírus bovino tipo 5 e Meningoencefalite herpética bovina. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 131-141, jan./jun. 2002.

HEINEMANN, M. B. *et al.* Genealogical analysis of rabies virus strain from Brazil based on N gene alleles. **Epidemiology & Infection**, Cambridge, v. 128, n. 3, p. 503-511, June 2002.

KANITZ, F. A. *et al.* Virus isolation in cell culture for confirmatory diagnostic of rabies in bovine specimens. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 12, p. 2193-2196, dez. 2015.
Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v45n12/1678-4596-cr-45-12-02193.pdf>>.
Acesso em: 27 nov. 2018.

LANGHOR, I. M. *et al.* Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 125-131, jan/fev, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v33n1/14154.pdf>>.
Acesso em: 27 nov. 2018.

LEMOS, R. A. A. Reconhecimento e diagnóstico das principais enfermidades de bovinos diagnosticadas no Mato Grosso do Sul. Campo Grande: Editora da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, p. 47-58, 1998.

LIMA, E. F. *et al.* Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 25, n. 4, p. 250-264, out./dez. 2005. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v25n4/a11v25n4.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2018.

OLIVEIRA, A. N. *et al.* Immune response in cattle vaccinated against rabies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 1, p. 83-88, jan./ fev. 2000. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762000000100013>.
Acesso em: 27 nov. 2018.

PEDROSO, P. M. O. *et al.* Aspectos clínicos e patológicos em bovinos afetados por raiva com especial referência ao mapeamento do antígeno rábico por imuno-histoquímica. **Pesquisa**

Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 29, n. 11, p. 899-904, nov. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v29n11/a06v2911.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2018.

PIETZSCHKE, H. Infecções por Rabdovírus. *In*: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Roca, 1999. v. 1, cap. 10, p. 167-182.

RECH, R. R. *et al.* Meningoencefalite granulomatosa em bovinos em pastoreio de ervilhaca (*Vicia spp.*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro. v. 24, n. 3, p. 169-172, abr./jun. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/pvb/v24n3/v24n3a10.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2018.

RIO GRANDE DO SUL, Secretaria da Agricultura. **Relatório da raiva bovina**. [Porto Alegre, 2016]. 6 p. Disponível em: <<http://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201612/02110534-see-relatorio-raiva-bovina-v-3.pdf>>. Acesso em 19 nov. 2018.

RISSI, D. R. *et al.* Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro. v. 26, n. 2, p. 123-132, abr./jun. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v26n2/a10v26n2.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2018.

RODRIGUEZ, L. *et al.* Rhabdoviridae. *In*: FLORES, E. F. (ed.). **Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 2. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2012. cap. 28, p. 795-830.

RODRIGUEZ, L. *et al.* Rhabdoviridae. *In*: FLORES, E. F. (org.). **Virologia veterinária**, Santa Maria: Ed. da UFSM, 2007. cap. 27, p. 691-718.

SANCHES, A. W. D. *et al.* Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p. 113-118, jul./set. 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v20n3/2729.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2018.

SANTOS, B. L. *et al.* Doenças do sistema nervoso central de bezerros no sul do Rio Grande do Sul: uma contribuição ao diagnóstico diferencial. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 4, p. 685-691, abr. 2018. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v38n4/1678-5150-pvb-38-04-685.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2018.

TEIXEIRA, T. F. *et al.* Diagnóstico de Raiva no Rio Grande do Sul, Brasil, de 1985 a 2007. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n.10, p. 515-520, out. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v28n10/v28n10a12.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2018.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Rabies**. Paris, 2009. Disponível em: <[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/rabies](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/rabies.pdf)>.pdf. Acesso em: 15 nov. 2018.