

Raiva em equino na região Sul do estado do Piauí

Equine Rabies in the Southern Region of Piauí State

David Germano Gonçalves Schwarz¹, Flávia Melo Barreto², Marlon de Araújo Castelo Branco³,
Glenda Lídice de Oliveira Cortez Marinho¹, Márcia Paula Oliveira Farias¹, Hatawa Melo de Almeida Monteiro¹,
Rivanni Jeniffer Souza Castro¹ & Mikael Leandro Duarte de Lima Tolentino¹

ABSTRACT

Background: Rabies is an infectious disease that is important in the “One Health” worldwide with high lethality rate. The etiological agent is a neurotropic virus, genus *Lyssavirus*, transmitted mainly through the saliva of infected animals. For equines, the bite of hematophagous bats is the main source of infection. Piauí is an important state for equestrian sports and the increase in the number of horses with neurological clinical signs without diagnosis has increased in recent years. In this context, the aim of this study is to report to the scientific community a confirmed case of equine rabies in the Santa Luz county, Southernmost state of Piauí, Brazil.

Case: A 3-year-old female non-defined breed horse, was admitted to the Hospital Veterinário da Universidade Federal do Piauí (UFPI/CPCE). The equine had difficulty walking 2 days ago, in the panoramic inspection was restless and disoriented in the paddock. Rectal temperature of 38.2°C, heart rate of 60 bpm, respiratory rate of 40 mpm, congested mucosa and dyspnea were verified. With the progression of the neurological signals, it positioned itself in a lateral decubitus with pedaling movements, hyperesthesia, dysphagia and paralysis of the hindlimbs. The clinical suspicion was rabies and the Agência de Defesa Agropecuária do Piauí (ADAPI) was communicated to euthanize the animal and collect samples for diagnosis in accordance with official standards of the Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). At necropsy, there was slight brain hyperemia, with no other significant organ changes. Fragments of the cerebellum, cortex, hippocampus and spinal cord were collected and sent at a temperature of 4°C to perform the Direct Immunofluorescence (DIF) assay. Samples for histopathology were not collected because they do not include assay for confirmatory diagnosis of rabies. The DIF technique with antigen-labeled antibodies were performed in the imprint lamina of these fragments. The fragments were treated according to specific protocol. The results were negative for DIF in the collected equine fragments. For complementary exam, the samples were homogenized, clarified and inoculated intracranial in BALB/C mice, being observed for up to 30 days. The samples were positive after the bioassay.

Discussion: Piauí is a state with great equestrian activity that expose the animals to the risks of transmission of infectious diseases. Among these diseases, rabies is important for affecting horses, but also humans (veterinarians and owners). In the present report, the equine showed clinical signs of furious rabies for a short period, rapidly evolving to paralytic form. This clinical aspect must be carefully evaluated by the veterinarian, in order to avoid false clinical suspicions such as tetanus or other non-infectious diseases. The official diagnosis of the rabies is DIF technique, with high sensitive (80-100%). According to the results of the DIF technique, it was possible to confirm the clinical suspicion of rabies in mice previously inoculated with emulsion of fragments of the equine central nervous system (CNS). This fact demonstrates that in negative results for CNS samples from the horse, the bioassay increases the sensitivity of the test and avoids false negative diagnoses. Thus, it was possible to prove that rabies is affecting the equines in the southern region of Piauí state and alerts the breeders and the community to intensify surveillance and control of the hematophagous bats. For the authors, this is the first scientific report of rabies in the region studied.

Keywords: nervous signs, Direct Immunofluorescence, hematophagous bat.

Descritores: sinais nervosos, Imunofluorescência Direta, morcego hematófago.

DOI: 10.22456/1679-9216.101394

Received: 28 March 2020

Accepted: 30 September 2020

Published: 21 October 2020

¹Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus “Professora Cinobelina Elvas” (UFPI/CPCE), Bom Jesus, PI, Brazil. ²Agência de Defesa Agropecuária do Piauí (ADAPI), Teresina, PI. ³Fundação Municipal de Saúde da Prefeitura de Teresina, Teresina. CORRESPONDENCE: D.G.G. Schwarz [davidggs.vet@gmail.com]. BR 135 km 03. CEP 64900-000 Bom Jesus, PI, Brazil.

INTRODUÇÃO

A raiva é uma zoonose neurotrópica de alta letalidade, sendo considerada endêmica em todo território brasileiro. O agente etiológico é um vírus envelopado, RNA fita simples, família *Rhabdovirinae* e gênero *Lyssavirus*, responsável por alterações neurológicas progressivas e fatais para a maioria dos mamíferos [1]. A principal via de transmissão para herbívoros é a mordedura do morcego hematófago *Desmodus rotundus* infectado, que habita toda América do Sul. Equinos acometidos podem manifestar agressividade, fotofobia, hiperestesia, incoordenação motora, paralisia de membros, cólica, anorexia, dificuldade respiratória, decúbito e óbito [7].

Em 2017, o Brasil possuía 4.236,062 equinos, sendo 68.001 encontrados no Piauí [8], estado com importantes atividades culturais equestres. Embora haja comprovação da raiva nessa região, poucos estudos científicos em equinos são documentados. Um levantamento da raiva equina no Piauí, entre 2007 a 2011, revelou 2,8% (1/35) de casos positivos [15]. Por outro lado, em Minas Gerais, Costa et al. [4] demonstraram que, entre 2009 a 2011, houve 21,7% (47/217) de equinos positivos para raiva pela técnica de *Imunofluorescência* direta (IFD) e prova biológica. Na Paraíba, entre 2002 a 2008 foram verificados 6,9% (11/159) casos positivos dentre os equinos encaminhados para atendimento veterinário [13]. Embora seja

verificado que a raiva tenha prevalência variada nos estados brasileiros, o Piauí ainda carece de informações relacionadas aos aspectos clínicos na espécie equina.

O objetivo do presente trabalho é relatar um caso de raiva equina no município de Santa Luz, Piauí e descrever os aspectos inerentes à confirmação diagnóstica.

CASO

Foi encaminhado para o Hospital Veterinário da Universidade Federal do Piauí, campus “Professora Cinobelina Elvas” (HVU-UFPI/CPCE) um equino, fêmea, sem raça definida, com três anos de idade e sem histórico de vacinação antirrábica. O proprietário relatou que o animal apresentou alteração do comportamento há dois dias, iniciando com inquietação, correndo descontroladamente no piquete, progredindo para paralisia dos membros anteriores e movimento de mastigação. Ao realizar a avaliação clínica inicial, foi verificada temperatura retal de 38,2°C, frequência cardíaca de 60 batimentos por minuto, frequência respiratória de 40 movimentos por minuto, mucosas congestas, dispneia, posicionando-se em decúbito lateral com movimentos de pedalagem e hiperestesia (Figura 1A). Em seguida, verificou-se o relaxamento do tônus do esfíncter anal, disfagia e rápida progressão da paralisia para os membros posteriores. Inicialmente foi suspeitado de tétano, porém, o proprietário relatou que meses anteriores, alguns animais de propriedades

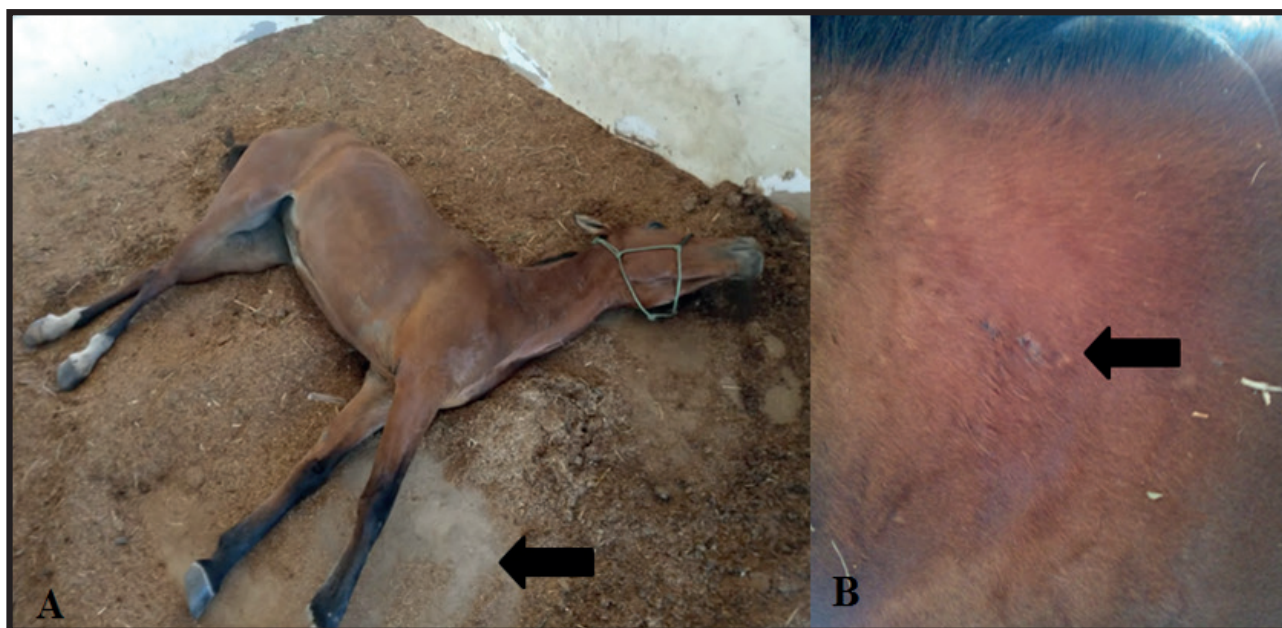


Figura 1. Equino com os sinais clínicos nervosos. A- Movimento de pedalagem (seta), decúbito lateral e dispneia. B- Lesão causada por mordida de morcego hematófago na região do músculo trapézio.

próximas apresentaram sinais clínicos nervosos e morreram sem os proprietários comunicarem aos órgãos oficiais de defesa animal. Além disso, o animal tinha contato com outras espécies animais (bovinos, suínos e caninos), e não era mantido em abrigo fechado durante a noite. Ao realizar a inspeção física cuidadosa do animal, foi constatado lesão no músculo trapézio, característico de mordedura de morcego hematófago (Figura 1B). Devido ao histórico e evolução clínica, a Agência de Defesa Agropecuária do Piauí (ADAPI) foi acionada para realizar a eutanásia do animal e a coleta de materiais para diagnóstico de suspeita de raiva.

Na necropsia, verificou-se leve hiperemia do encéfalo, sem outras alterações significativas nos órgãos. Fragmentos de cerebelo, córtex, hipocampo e medula espinhal foram coletados e encaminhados a temperatura de -20°C para realizar exame de Imunofluorescência Direta (IFD), segundo protocolo do laboratório do Órgão de Defesa Oficial (Laboratório Oficial da ADAPI). Amostras para histopatologia não foram coletadas, pois não compreendem ensaio para diagnóstico confirmatório oficial da raiva. A técnica de IFD foi realizada em lâminas com impressão por decalque (imprint) para cada um dos fragmentos coletados e, após secagem, foram fixadas em acetona 100% a -20°C por 30 min. Na sequência, adicionou-se 25 μL de conjugado para o vírus da raiva e foram incubadas a 37°C por 30 min. Após sucessivas lavagens com solução salina tamponada (PBS, pH 7,2), as amostras foram analisadas por microscópio de fluorescência (100x). Todas as amostras coletadas diretamente do Sistema Nervoso Central (SNC) do equino foram negativas para a IFD. Desse modo, para realizar o exame complementar, realizou-se o bioensaio em oito camundongos BALB/C entre 19 a 21 dias de idade. Para essa técnica, 0,5 g dos fragmentos coletados do equino foram macerados, homogeneizados e centrifugados a 1.350 g. Em seguida, 30 μL do sobrenadante foi inoculado via intracerebral. Os camundongos foram observados diariamente durante 40 dias para verificar o aparecimento de alterações clínicas e/ou morte dos animais. Nos camundongos que vieram a óbito, coletou-se o encéfalo e realizou-se a técnica previamente descrita de IFD, os quais verificaram marcação positiva para o vírus da raiva (Figura 2 A & B).

DISCUSSÃO

No Brasil, o equino é utilizado para várias práticas econômicas, culturais e esportivas. No

Nordeste, sobretudo no estado do Piauí, a vaquejada é instituída como modalidade de esporte nacional e utiliza o equino como principal espécie nessa atividade. Desse modo, os relatos clínicos dos aspectos inerentes às doenças infectocontagiosas em equinos são fundamentais para evitar transmissão em equinos atletas. No presente estudo, verificou-se que o equino era adulto (3 anos de idade) e com evolução clínica progressiva durante 2 dias. Embora a infecção pelo *Lyssavirus* possa ocorrer em qualquer faixa etária, tem-se observado que em equinos, a apresentação clínica ocorre com frequência entre 2 a 8 dias [10]. Além disso, os sinais clínicos mais frequentes no início da doença são alterações do comportamento e paresia/paralisia dos membros. Embora, em equinos, seja mais frequente a paralisia dos membros posteriores [10,11], no presente caso clínico a paresia/paralisia iniciou-se nos membros anteriores para depois evoluir aos membros posteriores. Esse fato pode estar associado com a região da inoculação do vírus, onde observou-se lesão na região do pescoço, o qual permitiria que o vírus chegasse no SNC mais rápido. Além disso, o fato da paralisia rapidamente induzir ao decúbito do animal, infere evolução rápida da infecção para o SNC. Lima *et al.* [10] relatam que equinos com lesões medulares apresentam progressão clínica mais rápida, provavelmente devido ao decúbito em regiões quentes, como Nordeste. Contudo, é sugerido ainda que a progressão clínica possa estar diretamente relacionada com a quantidade de vírus inoculado por meio da ferida, sua adaptação ao hospedeiro e a capacidade de se ligar à receptores específicos como o nicotínico de acetilcolina (nAChR) e a molécula neuronal de adesão celular (NCAM) [6]. No presente

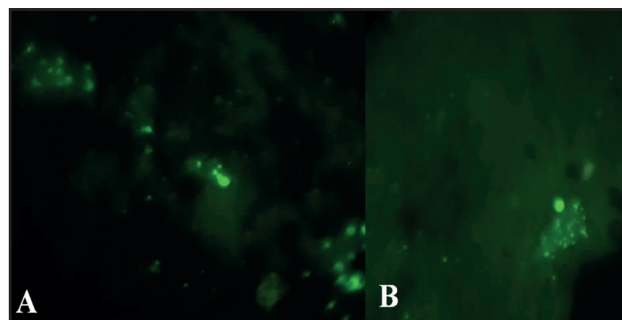


Figura 2. Marcação positiva (verde fluorescente) para o vírus da raiva pela Imunofluorescência Direta (IFD) em amostras de camundongos inoculados intracranialmente com solução de macerados dos fragmentos coletados do Sistema Nervoso Central do equino com sinais clínicos: A- Região cortical. B- Região cerebelar.

relato, os sinais clínicos de pedalagem, hiperestesia e paralisia progressiva resultaram em dispneia, disfagia e anorexia, corroborando com os achados clínicos de diferentes estudos [7,11]. Frequentemente os sinais clínicos nervosos são resultados de alterações importantes no SNC, relacionados a infiltrados inflamatórios mononuclear, principalmente na medula [13], e/ou necrose neuronal com neurofagia e sateliose de diferentes regiões do encéfalo [10].

O controle e prevenção da raiva no mundo é regulamentado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) por se tratar de um modelo global de doença infecciosa com interação na Saúde Única [12]. No Brasil, o Programa Nacional de Controle da Raiva de Herbívoros (PNCRH) determina as normas técnicas para o controle dessa enfermidade por meio da Instrução Normativa 05/2002. Desse modo, em qualquer equino suspeito de raiva deve-se realizar a coleta de fragmentos do encéfalo e parte da medula para o diagnóstico oficial [2]. Ainda, tem sido verificado que para equinos, o tronco cerebral e a medula espinal da região cervical possuem maior probabilidade de positividade quando utilizada a técnica de IFD para diagnóstico, principalmente quando a transmissão ocorrer pela mordida do *Desmodus rotundus* [3]. Portanto, as amostras coletadas (cerebelo, córtex, hipocampo e medula) foram encaminhadas para o diagnóstico oficial de IFD e bioensaio em camundongos. Não foi realizada a avaliação histopatológica, pois oficialmente a positividade na IFD confirma o caso suspeito [2].

Internacionalmente a IFD é um teste de confiabilidade entre 98% a 100% para detecção de *Lyssavirus*, quando utilizado conjugados adequados. Além disso, em resultados negativos ou inconclusivos, preconiza-se o reteste, a detecção molecular ou o bioensaio em camundongos [9]. No presente trabalho, a IFD nos fragmentos coletados do equino foi negativa, sendo instituída a inoculação intracranial em camundongos para otimizar a replicação viral das amostras no SNC. Desse modo, foram confirmadas a positividade das amostras. Esse fato confirma a necessidade da realização de teste confirmatório por bioensaio como ferramenta indispensável para o diagnóstico da raiva em equinos.

O tratamento da raiva em equinos positivos não é recomendado [5], devido ser uma doença progressiva e fatal. Além disso, a manutenção desses

animais na propriedade ou no hospital veterinário aumentam o risco de infecção para humanos e animais contactantes. Embora pouco frequente, sabe-se que o equino pode eliminar o vírus da raiva pela saliva, sendo um risco importante de infecção para médicos veterinários e assistentes durante a conduta clínica [3]. Embora a manutenção do animal suspeito para evolução dos sinais clínicos seja recomendável no diagnóstico histopatológico, devido detecção de maior número de corpúsculo de Negri no SNC [10], o risco para a saúde única e as atuais alternativas de diagnóstico não justificam a sobrevivência de animais com sinais clínicos de raiva.

À luz dos resultados apresentados, em casos de equinos com alterações neurológicas, o médico veterinário deve suspeitar de raiva, mesmo em regiões com alta prevalência de alterações nervosas provenientes de causas não infecciosas, pois a inobservância desse fato pode resultar em infecções fatais para humanos.

Para o controle da raiva na espécie equina, recomenda-se a vacinação anual dos animais, principalmente em áreas endêmicas [9] ou em casos de surtos. No caso apresentado, o proprietário relatou que outras espécies de animais tinham morrido após sinais clínicos nervosos. Nesses casos, a vacinação deve ser realizada em todos os animais e deve-se acionar órgãos oficiais para a mitigação da raiva.

O Piauí é o terceiro maior estado do Nordeste em território e o décimo em relação aos outros estados da Federação [14], possuindo importante representatividade nas atividades equestres regionais. Contudo, não há descrições clínicas de equinos acometidos pela raiva nessa região, embora a doença seja considerada endêmica em outras espécies [15].

Este relato descreve um caso de raiva em equino, decorrente da transmissão do vírus da raiva por meio da mordedura de morcegos hematófagos na região sul do estado do Piauí. Além disso, para o diagnóstico da raiva em equinos, reforça-se a necessidade da realização do bioensaio em camundongos para resultados negativos pela IFD de fragmentos do SNC, bem como aponta para a importância da vacinação dos animais na região estudada. Para os autores, este é o primeiro relato científico da raiva equina na região estudada.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this paper.

REFERENCES

- 1 **Banyard A.C. & Tordo N. 2018.** Rabies pathogenesis and immunology. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*. 37(2): 323-330.
- 2 **Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. 2009.** *Manual Técnico Controle da raiva dos herbívoros*. Brasília: MAPA/ACS, 124p.
- 3 **Carrieri M.L., Peixoto Z.M.P., Paciencia M.L.B., Kotait I. & Germano P.M.L. 2006.** Laboratory diagnosis of equine rabies and its implications for human postexposure prophylaxis. *Journal of Virological Methods*. 138(1-2): 1-9.
- 4 **Costa E.A., Rosa R., Oliveira T.S., Furtini R., Fonseca Júnior A.A., Paixão T.A. & Santos R.L. 2015.** Diagnóstico etiológico de enfermidades do sistema nervoso central de equinos no estado de Minas Gerais, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 67(2): 391-399.
- 5 **Dierks R.E. 1981.** Rabies. In: Howard J.L. *Current Therapy I: Food Animal Practice*. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 601p.
- 6 **Fooks A.R., Cliquet F., Finke, S., Freuling C., Hemachudha T., Mani R.S., Müller T., Nadin-Davis S., Picard-Meyer E., Wilde H. & Banyard A.C. 2017.** Rabies. *Nature Reviews Disease Primers*. 3(17091): 1-19.
- 7 **Green S.L. 1993.** Equine rabies. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 9(2): 337-347.
- 8 **IBGE. 2017.** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2017. Disponível em: <www.ibge.br/sidra>. [Accessed online in January 2020].
- 9 **Lecollinet S., Pronost S., Couplier M., Beck C., Gonzalez G., Leblond A. & Tritz P. 2020.** Viral equine encephalitis, a growing threat to the horse population in Europe? *Viruses*. 12(1): 1-29.
- 10 **Lima F.S., Gomes A.A.B., Lima E.F., Riet-Correa F. & Castro R.S. 2005.** Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 25(4): 250-264.
- 11 **Merini L.P., Cormelato A.T., Beck C.A.C., Garbade P., Bueno F.U., Pedroso P.M.O. & Carnesella S. 2010.** Raiva em equino no município de Porto Alegre - RS, Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*. 38(2): 213-216.
- 12 **Moore S.M. 2019.** Rabies: current preventive strategies. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 49(4): 629-641.
- 13 **Pimentel L.A., Oliveira D.M., Galiza G.J.N., Rego R.O., Dantas A.F.M. & Riet-Correa F. 2009.** Doenças do sistema nervoso central de equídeos no semi-árido. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29(7): 589-597.
- 14 **Santos O.I.B. & Rathmann R. 2009.** Identification and analysis of local and regional impacts from the introduction of biodiesel production in the state of Piauí. *Energy Policy*. 37(10): 4011-4020.
- 15 **Santos A.V.P., Caldas M.L., Klein Junior M.H., Silva A.L.D. & Cardoso Filho F.C. 2016.** Raiva em herbívoros no estado do Piauí no período de 2007 a 2011. *Acta Veterinaria Brasilica*. 10(3): 224-228.