

Interpretação de testes laboratoriais para a raiva



Freepik

Paulo Eduardo Brandão CRMV/SP 01154

Departamento de Medicina Veterinária e Preventiva e Saúde Animal,
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo

Palavras-chave: raiva, diagnóstico, testes, cinomose, cães

Resumo: O diagnóstico de raiva é dependente de testes laboratoriais como a imunofluorescência direta e a prova biológica, dado que enfermidades diversas, com a cinomose no caso de cães, pode tanto confundir o diagnóstico clínico quanto ocorrer simultaneamente a raiva e discrepâncias entre tais testes podem ocasionar confusão na interpretação do diagnóstico final. Este é o tema deste texto, trazendo como exemplo o recente caso de raiva em cão registrado na cidade de São Paulo.

A cada ano, 70.000 pessoas morrem pela raiva mundialmente, uma encefalite zoonótica aguda de letalidade absoluta dada a inexistência de tratamento, mas que pode ser prevenida com total segurança e efetividade com o uso de vacinas em pré-exposição para pessoas em risco e pós-exposição quando de acidentes que sujeitem pessoas ao vírus da raiva (1).

Dentre estes acidentes, o que predomina no mundo todo são mordeduras de cães, o principal reservatório para a raiva

humana (2). Frente a este fato, a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem como meta a eliminação da raiva canina até 2030. É uma imensa tarefa, pois envolve campanha de vacinação e esterilização de cães (e gatos), educação em saúde e vigilância, esta última apoiada em técnicas de diagnóstico laboratorial, uma peça de complexidade nada desprezível.

A necessidade pela confirmação laboratorial de raiva se justifica pela impossibilidade de diferenciação de diversas enfermidades infecciosas, tóxicas, metabólicas e neoplásicas que podem levar a quadros clínicos indistinguíveis e que variam de acordo com a espécie em questão. Em cães, a cinomose, de alta frequências de ocorrência, deve ser considerada para o diagnóstico diferencial com a raiva canina, de rara ocorrência atualmente no Brasil.

A técnica padrão-ouro para o diagnóstico direto, ou seja, demonstração da presença do vírus da raiva, é a imunofluorescência direta (IFD), que utiliza anticorpos marcados com fluoresceína, uma molécula fluorescente, para evidenciar a presença de antígenos virais em impressões de córtex, hipocampo, cerebelo e medula tomadas após necropsia. Destaca-se a necessidade de que todas estas seções do sistema nervoso central sejam enviadas ao laboratório e não apenas o hipocampo, para que se tenha maior acurácia no diagnóstico.

Para um resultado positivo em IFD, não é necessário que o vírus da raiva esteja viável e infeccioso nas amostras, sendo

suficiente que haja resquícios de proteínas virais nas células; entretanto, o sinal fluorescente depende de uma quantidade suficiente de antígenos contidos no corpúsculo de Negri que se forma para a replicação viral.

Paralelamente, é recomendável que demonstre também a presença de vírus infeccioso, o que é feito por provas biológicas em camundongos ou em cultivo celular. Nesse caso, tem-se o oposto da IFD: é necessário ter vírus viável, infeccioso, para infectar os animais de laboratório as culturas de células *in vitro*, e mesmo uma baixa carga viral já é suficiente para tal.

Então, em que casos a IFD e a prova biológica podem discordar? Se a amostra não foi devidamente conservada sob refrigeração durante o envio ou congelamento até que pudesse ser enviada ou se se passou muito tempo da morte do animal até a tomada da amostra, o vírus da raiva, sendo envelopado, acaba sendo inativado por sua alta sensibilidade e não é mais infeccioso, resultado negativa e a prova biológica. Mas, como já exposto, a IFD depende apenas de quantidade suficiente de antígenos virais e não de vírus infeccioso para um resultado positivo. Nesse caso, temos IFD positiva e prova biológica negativa e o resultado é positivo.

Paralelamente, é possível também que a quantidade de vírus presente na amostra seja muito pequena para gerar sinal de fluorescência na IFD, mas suficiente para infectar camundongos ou cultivos celulares. Nesse caso, temos IFD negativa e prova biológica positiva e o resultado também é positivo.

Mas, e se tivermos ambas IFD e prova biológica negativa e a suspeita clínica e epidemiológica indicarem raiva mesmo assim? Aí podemos contar com o poder da PCR em tempo real: mesmo que a amostra esteja autolisada, impedindo a detecção e antígenos virais e de vírus viáveis para infecção, pequenas quantidades de RNA do vírus da raiva já são suficientes para um resultado positivo na PCR em tempo real. Uma situação similar pode também ocorrer se o animal veio a óbito em pouco tempo após o início dos sintomas, como em casos de eutanásia, e não houve tempo suficiente para o vírus da raiva se reproduzir em quantidade suficiente para ser detectado pela IFD ou pela prova biológica, mas sim pela PCR em tempo real.

Esta foi a situação que ocorreu em agosto de 2023 em São Paulo SP, quando um cão errante com sinais neurológicos foi eutanasiado após morder cinco pessoas (3). Em um trabalho em conjunto entre a FMVZ USP, o Instituto Pasteur de São Paulo e a Coordenadoria de Vigilância em Saúde (COVISA) da Prefeitura Municipal de São Paulo, as amostras foram negativas por IFD e prova biológica, mas, dado o risco as pessoas agredidas, decidiu-se pelo uso da PCR em tempo real, que resultou positiva e, graças a este resultado, os pacientes agredidos foram submetidos a terapia pós-exposição a raiva com vacinação e soroterapia. Um estudo genômico da variante de vírus rábico encontrada demonstrou tratar-se de linhagem viral mantida entre morcegos hematófagos *Desmodus rotundus* e frugívoros do gênero *Artibeus*, com os quais o cão deve ter entrado em contato, não tendo sido encontrada a variante típica de raiva canina chamada de variante antigênica



Freepik

2. Ainda, neste mesmo cão, encontrou-se, por PCR, o vírus da cinomose, demonstrando que estas duas ou mesmo mais infecções podem ocorrer de modo simultâneo.

Os profissionais de Medicina Veterinária, por sua formação em Zoonoses e Saúde Pública, são os mais aptos a trabalhar para a prevenção da raiva humana, não só pelo controle da raiva em animais silvestres e de produção, mas também no da raiva canina e felina. Conhecer o que pode ser esperado dos testes laboratoriais para esta doença e como interpretar tanto resultados concordantes quanto discrepantes deve fazer parte da formação continuada destes profissionais para que este trabalho tão fundamental seja executado com excelência pois, citando Louis Pasteur, "A Medicina cura o ser humano, a Medicina Veterinária cura a humanidade"

Referências

1. Davis BM et al. Everything You Always Wanted to Know About Rabies Virus (But Were Afraid to Ask). **Annu Rev Virol** v.2, n.1, p. 451-471, 2015. doi: 10.1146/annurev-virology-100114-055157.
2. Fooks AR et al. Rabies. **Nat Rev Dis Primers** v.3,17091, 2017. doi: 10.1038/nrdp.2017.91.
3. Brandão, PE, Agostinho, WC, Silva, SOS, Miyagi, SAT, Mori, E, Oliveira, RN, Barone, GT, Conselheiro, JA. Rabies in a dog, São Paul city, 2023. **BJVRAS** 2024 (no prelo).

Nota da redação: no início de abril, foi encontrado um morcego morto numa área residencial e estava infectado com o vírus da raiva. Nos jardins das residências, os cães e gatos soltos costumam caçar estes morcegos e podem se infectar. Caso de raiva em Ibiuna veja no site da Apamvet.