

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA VETERINÁRIA**

DISSERTAÇÃO

**Estudo Clínico-Epidemiológico de Surto de Poxvírose Bovina e
Humana na Região Sul do Estado do Rio de Janeiro**

Renata Vitória Campos Costa

2008



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTUDO CLÍNICO- EPIDEMIOLÓGICO DE SURTOS DE
POXVIROSE BOVINA E HUMANA NA REGIÃO SUL DO ESTADO DO
RIO DE JANEIRO**

RENATA VITÓRIA CAMPOS COSTA

Sob a Orientação do Prof. Dr.
Carlos Maria Antônio Hubinger Tokarnia

E Co-orientação do Dr.
Hermann Gonçalves Schatzmayr

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ
Outubro de 2008

636.20898198153

C837e

T

Costa, Renata Vitória Campos, 1972-

Estudo Clínico-Epidemiológico de Surtos de Poxvirose Bovina e Humana na Região Sul do Estado do Rio de Janeiro / Renata Vitória Campos Costa – 2008.

78 f. : il.

Orientador: Carlos Maria Antônio Hubinger Tokarnia.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Bibliografia: f. 75-78.

1. Bovino – Doenças – Rio de Janeiro - Teses. 2. Zoonoses – Rio de Janeiro - Teses. 3. Bovino – Poxvirose – Epidemiologia – Rio de Janeiro - Teses. I. Tokarnia, Carlos Maria Antônio Hubinger, 1929-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

RENATA VITÓRIA CAMPOS COSTA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Animal

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 29/10/2008

Prof. Dr. Carlos Maria Antônio Hubinger Tokarnia
(orientador)

Prof. Dr. Flavio Soares da Graça

Prof. Dra. Ticiano do Nascimento França

Dedico este trabalho ao meu querido Pai que sempre me incentivou e me deu a oportunidade de chegar onde estou. A minha mãe pelo carinho e compreensão. E as minhas filhas, Vitória Costa Villela e Joana Costa Villela, que souberam compreender cada ausência, sempre me esperando de braços abertos.

RESUMO

COSTA, Renata Vitória Campos. **Estudo Clínico- Epidemiológico de Surtos de Poxvirose Bovina e Humana na Região Sul do Estado do Rio de Janeiro.** 2008. 79 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

Neste estudo descrevem-se surtos de infecção por um vírus do grupo pox em bovinos e humanos ocorridos entre maio de 2006 a outubro de 2007, nos municípios de Piraí, Barra do Piraí, Rio das Flores, Resende, Rio Claro e Valença, no Estado do Rio de Janeiro. São apresentadas, detalhadamente, as características clínicas, epidemiológicas e patológicas dessa enfermidade. Exames de soroneutralização, visualização pelo microscópio eletrônico, isolamento viral e identificação molecular através da PCR (Reação em cadeia de polimerase), demonstraram tratar-se de uma cepa molecularmente muito próxima às amostras do Vaccinia vírus (Orthopoxvirus) que foram utilizadas no preparo de vacinas durante as campanhas de erradicação da varíola humana, nas décadas de 60 e 70. Trata-se de uma importante zoonose adquirida por ordenhadores que têm contato direto com tetas e úberes de vacas infectadas durante a ordenha, e que cursa com consideráveis perdas econômicas, principalmente devidas à redução na produção de leite no animal e incapacitação temporária dos ordenhadores.

Palavras-chave: Bovino. Poxvirus. Zoonose.

ABSTRACT

COSTA, Renata Vitória Campos. **Clinic-epidemiological aspects of cattle and human infections by poxvirus in Rio de Janeiro State, Brazil.** 2008. 79 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

In the South of Rio de Janeiro State, Brazil, numerous outbreaks of poxvirus infection in cattle and humans are described. Clinical, epidemiological and pathological aspects are presented and discussed. Serum neutralization, ultramicroscopy, viral isolation and PCR showed poxvirus strains very close to those employed in preparation of the human variola vaccines made in Rio de Janeiro State at 60/70's. The disease is a zoonosis and causes important economic losses due to decrease of milk production and temporary incapacitation of milkmen.

Key words: Cattle, poxvirus, zoonosis

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Poxvírus dos vertebrados.	04
Tabela 02: Orthopoxvírus. Hospedeiros naturais e distribuição geográfica.	05
Tabela 03: Total de propriedades visitadas por município.	18
Tabela 04: Poxvirose bovina e humana no Estado do Rio de Janeiro. Identificação e distribuição das propriedades estudadas, por município, no período de maio de 2006 a outubro de 2007.	24
Tabela 05: Poxvirose bovina e humana no Estado do Rio de Janeiro. Distribuição mensal e anual dos casos.	26
Tabela 06: Poxvirose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Taxa de ataque das vacas em lactação nas propriedades estudadas.	29
Tabela 07: Poxvirose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Taxa de infecção nos bezerros, por propriedade.	30
Tabela 08: Poxvirose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Manejo na ordenha e taxa de ataque das vacas em lactação.	31
Tabela 09: Poxvirose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Distribuição dos casos de poxvirose humana nas propriedades estudadas. Número de indivíduos clinicamente afetados por propriedade.	34
Tabela 10: Resultados laboratoriais das amostras de bovinos e humanos.	58
Tabela 11: Resultados laboratoriais.	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Localização geográfica dos municípios com casos de poxvirose bovina e humana.	23
Figura 02: Poxvirose bovina e humana no Estado do Rio de Janeiro. Distribuição mensal e anual dos casos.	27
Figura 03: Poxvirose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Manejo na ordenha e taxa de ataque das vacas em lactação.	32
Figura 04: Vesícula única, repleta de líquido, na teta de uma vaca em fase inicial de infecção. Sítio São Sebastião. Rio das Flores.	36
Figura 05: Vesícula em vias de romper. Fazenda Mato Dentro. Ipiabas, Barra do Pirai.	36
Figura 06: Múltiplas vesículas em vias de romper, na extremidade de uma teta. Fazenda Mato Dentro. Ipiabas, Barra do Pirai.	37
Figura 07: Vesícula rompida na teta de uma vaca. Desprendimento do tecido ressecado deixando uma lesão ulcerada. Sítio do Forte. Arrozal, Pirai.	37
Figura 08: Lesão ulcerada, após o rompimento de vesículas. Sítio do Forte. Arrozal, Pirai.	38
Figura 09: Lesões ulceradas na teta de uma vaca, aproximadamente duas semanas de evolução. Sítio Furnas. Valença.	38
Figura 10: Desprendimento do tecido ressecado, na teta de uma vaca. Sítio Dois Coqueiros. Fumaça, Resende.	39
Figura 11: Mesma teta da figura 10, após retirada mecânica do tecido ressecado que recobria a lesão. Sítio Dois Coqueiros. Fumaça, Resende.	39
Figura 12: Lesões ulceradas extensas, com aproximadamente duas semanas de evolução, resultado da confluência de várias vesículas rompidas. Fazenda São Thiago. Barra do Pirai.	40
Figura 13: Lesão ulcerada extensa com início de formação de crosta. Sítio do Iran. Arrozal, Pirai.	40
Figura 14: Lesões ulceradas extensas, recobertas por crostas. Fazenda Ibitira. Barra do Pirai.	41
Figura 15: Lesão recoberta por crostas. Sítio do Iran. Arrozal, Pirai.	41
Figura 16: Lesão recoberta por crosta, na extremidade de uma teta. Sítio Mangueira. Arrozal, Pirai.	42
Figura 17: Lesão única, com formação de crosta. Sítio Mangueira. Arrozal, Pirai.	42
Figura 18: Várias lesões em fase inicial de cicatrização. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.	43
Figura 19: Lesão em fase de cicatrização. Sítio Santa Bárbara. Conservatória, Valença.	43
Figura 20: Lesões em regressão (em fase de cicatrização). Sítio do Forte. Arrozal, Pirai.	44
Figura 21: Múltiplas lesões com crostas distribuídas simultaneamente nas tetas e úbere de uma vaca. Sítio Fumaça. Resende.	44
Figura 22: Lesão na língua de um bezerro lactente. Sítio do Forte. Arrozal, Pirai.	45
Figura 23: Lesão na região labial lateral de um bezerro lactente. Sítio do Forte. Arrozal, Pirai.	45
Figura 24: Lesão na região do focinho de um bezerro lactente. Sítio Fumaça. Fumaça, Resende.	46
Figura 25: Lesão ulcerada na região do focinho, próximo à mucosa nasal de um bezerro lactente. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.	46

Figura 26: Lesão crostosa logo acima da região do focinho de um bezerro lactente. Fazenda São Thiago. Barra do Pirai.	47
Figura 27: Lesão crostosa crosta na região do focinho de um bezerro lactente. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.	47
Figura 28: Vesícula íntegra na extremidade do dedo de um ordenhador. Sítio do sertão. Conservatória, Valença.	49
Figura 29: Vesícula única no dedo de um ordenhador. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.	49
Figura 30: Mesmo ordenhador da figura 29, com lesão vesicular na palma da mão. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.	50
Figura 31: Vesícula rompida no dedo de ordenhador. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.	50
Figura 32: Vesícula extensa, após a punção para coleta de líquido vesicular. Pirai.	51
Figura 33: Lesões ulceradas extensas nas mãos da esposa de um ordenhador que ajudava na ordenha. Fazenda São Thiago. Barra do Pirai.	51
Figura 34: Lesão ulcerada no dedo de um ordenhador e no teto de uma vaca. Sítio Dois Coqueiros. Fumaça, Resende.	52
Figura 35: Lesões ulceradas na mão de um ordenhador. Sítio Furnas. Valença.	52
Figura 36: Vesícula rompida nos dedos e mãos de um ordenhador. Sítio Santa Bárbara, Valença.	53
Figura 37: Lesões em dedo e mão de um ordenhador. Sítio Furnas. Valença.	53
Figura 38: Lesão em fase de cicatrização, no dedo de um ordenhador. Pirai.	54
Figura 39: Lesões em fase de cicatrização, na mão e pulso de um ordenhador. Sítio Cafundó. Fumaça, Resende.	54
Figura 40: Lesões crostosas, na face de um ordenhador. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.	55
Figura 41: Vesículas rompidas na face de um ordenhador. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1 Propriedades Gerais dos Poxvírus	03
2.2 Classificação dos Poxvírus	03
2.3 Orthopoxvirus que Causam Infecção no Homem	05
2.3.1 Smallpox vírus – Variola dos humanos	05
2.3.2 Cowpox vírus - Variola bovina	07
2.3.3 Monkeypox vírus	08
2.3.4 Bufalopox vírus	09
2.3.5 Vaccinia vírus	09
2.3.5.1 Infecção Natural Pelo Vaccinia vírus nas Décadas de 60 e 70	10
2.3.5.2 Infecções Recentes Causadas por Cepas Derivadas do Vaccinia vírus	12
2.4 Parapoxvírus que Causam Infecção no Homem	15
2.4.1 Pseudovariola ou Paravaccinia	16
2.4.2 Ectima Contagioso ou Orf vírus	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Locais de Ocorrência dos Surtos	18
3.2 Dados Clínicos e Características Epidemiológicas	20
3.3 Coleta das Amostras para Diagnóstico Laboratorial	20
3.3.1 Sangue	20
3.3.2 Crostas e líquido vesicular	20
3.4 Isolamento Viral	21
3.5 Microscopia Eletrônica	21
3.6 Sorologia	21
3.7 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)	22
3.7.1 Procedimentos para extração do DNA viral	22
3.7.2 Amplificação para o gene da hemaglutinina (HA) dos Poxvirus	22
3.7.3 Sequenciamento cíclico	22
4 RESULTADOS	23
4.1 Distribuição Geográfica da Poxvirose em Bovinos e Humanos no Estado do Rio de Janeiro	23
4.2 Características Epidemiológicas da Poxvirose em Bovinos	25
4.3 Características Epidemiológicas da Poxvirose em Humanos	33
4.4 Quadro Clínico da Poxvirose no Gado Leiteiro	35
4.5 Quadro Clínico da Poxvirose em Humanos	48
4.6 Resultados laboratoriais	56
4.6.1 Soroneutralização para Orthopoxvirus	56
4.6.2 Isolamento viral	56
4.6.3 Microscopia eletrônica	56
4.6.4 Reação em cadeia de polimerase (PCR)	56
5 DISCUSSÃO	69

5.1 Epidemiologia dos Surtos	69
5.2 Clínica e Epidemiologia da Infecção em Bovinos	70
5.3 Clínica e Epidemiologia da Infecção em Humanos	71
5.4 Diagnóstico Laboratorial	72
5.5 Origem dos Surtos	72
6 CONCLUSÕES	74
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1. INTRODUÇÃO

Os Poxvírus (família Poxviridae) constituem um antigo e complexo grupo de vírus capazes de infectar o homem e muitas espécies de vertebrados e invertebrados. Provavelmente, o grupo evoluiu a partir de amostras ancestrais que infectavam roedores mamíferos que ainda albergam vários gêneros e espécies de Poxvírus. Nos vertebrados, os vírus desse grupo causam, essencialmente, infecções vesículo-pustulares, com diferentes graus de severidade. Dos oito gêneros hoje conhecidos dessa família, quatro infectam o homem: Orthopoxvírus, Parapoxvírus, Yatapoxvírus e Moluscipoxvírus. A maioria dos Poxvírus patogênicos para o homem são zoonóticos. O vírus da Variola humana (Smallpox vírus, gênero Orthopoxvírus) infecta exclusivamente humanos.

Entre os Orthopoxvírus destacam-se, além do da Variola humana, erradicado do mundo desde 1977, o vírus da Variola dos macacos (Monkeypox vírus), que inicialmente circulava exclusivamente na África e foi introduzido nas Américas através de um roedor utilizado como animal de estimação, o da Variola dos bovinos (Cowpox vírus), uma zoonose que ocorre na Europa e parte da Ásia, e o Vaccinia vírus, utilizado para o preparo de vacinas humanas. Os Monkeypox vírus e Cowpox vírus nunca foram demonstrados nas Américas. No grupo dos Parapoxvírus encontramos o vírus denominado “Orf”, transmitido ao homem por ovinos e caprinos, o vírus denominado Pseudocowpox (ou Para-vaccinia), transmitido por bovinos e agentes do nódulo do ordenhador, e o Vírus da Estomatite Papular, igualmente originário de bovinos.

Duas espécies de Yatapoxvírus (Tanapox vírus e o Vírus do Tumor de Macaco) que causam quadros febris e lesões na pele em humanos, possivelmente são transmitidos por insetos, exclusivamente na África. O gênero Moluscipoxvírus inclui apenas o Vírus do Molusco Contagioso que ocorre em todo o mundo, exclusivo de humanos, como causa de lesão papular transmitida por contacto direto, e este vírus tem surgido como um agente oportunista em síndromes de imunodeficiência adquirida (BIRTHISTLE; CARRINGTON, 1997). Há, porém, um relato sobre a ocorrência do Molusco Contagioso em equinos (RAHALEY; MUELLER, 1983).

Em 1965, em São Paulo, foi isolado, de um roedor mantido como sentinela em área florestal, um vírus do grupo pox denominado “Cotia”, ainda não-classificado em nenhum dos gêneros da família, mas que apresenta algumas características do Vaccinia vírus. Posteriormente, outro Poxvírus isolado na mesma área mostrou propriedades semelhantes (FONSECA et al., 2002). Estes vírus, até o momento, não estão associados a nenhuma doença humana ou animal.

A partir de 1999, foram observados sucessivos casos de Poxvírus em bovinos e humanos, em diversos estados brasileiros, inclusive no Estado do Rio de Janeiro, em contato direto com animais infectados, principalmente ordenhadores (SCHATZMAYR et al., 2000).

Os estudos clínicos epidemiológicos e virológicos neste Estado têm demonstrado que essas infecções são causadas por amostras de Orthopoxvírus, molecularmente muito próximas às amostras do Vaccinia vírus, utilizadas no preparo de imunizantes contra a Variola, até a década de 70 do século passado. Estas observações sugerem que os vírus utilizados nas campanhas de vacinação em massa contra Variola possam ter se adaptado a hospedeiros de vida livre, provavelmente roedor. Estas infecções foram inicialmente descritas no município de Pirai em 1999, logo após em Cantagalo, no norte do Estado, e posteriormente nos

municípios vizinhos de Santo Antônio de Pádua, Aperibé e Cambuci (DAMASO et al., 2000; SCHATZMAYR et al., 2000).

Recentemente amostras muito próximas, no que se refere ao aspecto molecular do Vaccinia vírus, foram isoladas de lesões cutâneas de bovinos e de humanos nos municípios de Araçatuba e Passatempo, no Estado de Minas Gerais (TRINDADE et al., 2003; LEITE et al., 2005).

Ao longo dos últimos 18 anos, amostras virais têm sido isoladas de bovinos e de humanos. Anticorpos contra vírus do grupo do Orthopox e a presença do genoma viral, têm sido demonstrados por meio de testes diagnósticos (DAMASO et al., 2000; TRINDADE et al., 2003; LEITE et al., 2005).

Este trabalho, realizado em seis municípios do Estado do Rio de Janeiro durante o período de março de 2006 a outubro de 2007, tem como objetivo descrever numerosos surtos de infecções por Orthopoxvírus que continuam a ocorrer em bovinos e humanos de diversos municípios do Estado, bem como caracterizar as condições epidemiológicas, os prejuízos econômicos e os achados clínicos das infecções de bovinos e humanos. Adicionalmente foram caracterizadas e tipificadas as cepas responsáveis pelos surtos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Propriedades Gerais dos Poxvírus

Os Poxvírus pertencem à família Poxviridae, infectam diversas espécies de vertebrados e invertebrados e são os maiores vírus dos animais (STOTT, 2003).

Em geral, os membros de um mesmo gênero possuem morfologia e propriedades biológicas semelhantes. À microscopia eletrônica o vírus apresenta formato oval (gênero Parapoxvírus) ou em forma de tijolo (gênero Orthopoxvírus, Yatapoxvírus e Molluscipoxvírus), com 200 a 440 nm de comprimento e raio axial de 1.2 a 1.7. (BULLER; PALUMBO, 1991; JONES et al., 2000; ROOP et al., 1999).

Os membros da Subfamília Chordopoxvirinae possuem mais de trinta proteínas estruturais, várias enzimas específicas de vírus, inclusive uma transcriptase dependente de DNA, e mais de cem polipeptídeos associados a vírus, distribuídos pelo núcleo, pela parede lateral, membrana e pelo envelope viral (STOTT, 2003).

O revestimento externo, composto de lipídeos e por estruturas protéicas globulares ou tubulares, envolve uma membrana lipoprotéica de camada dupla de 50 a 55 nm, dois corpos laterais e um núcleo. O genoma está contido no núcleo viral e consiste de uma molécula única de dupla fita de DNA. Os Poxvírus dos vertebrados possuem peso molecular de 85 a 240 milhões de daltons e multiplicam-se no citoplasma das células hospedeiras (BULLER; PALUMBO, 1991; STOTT, 2003).

Os Poxvírus parecem ser capazes de participar de trocas ocasionais de DNA de fontes heterólogas, e esta habilidade de compartilhar DNA provavelmente tem exercido significativa influência na evolução dessas viroses e em suas habilidades de se adaptar a hospedeiros específicos (REGNERY, 2007).

Todos os Poxvírus dos vertebrados são epiteliotrópicos e têm em comum a propriedade de produzir enfermidades que acometem tipicamente a pele dos animais através da formação de vesículas e pústulas. Nas aves, as doenças diferem das observadas nos mamíferos pela predominância de lesões proliferativas em relação às lesões vesículo-pustulares (LEWIS-JONES, 2004; STOTT, 2003).

2.2 Classificação dos Poxvírus

Os Poxvírus constituem um antigo e complexo grupo de vírus responsáveis por infecções em seres humanos, animais superiores, aves e insetos. Pertencem à família Poxviridae que esta dividida em duas subfamílias, a Entomopoxvirinae que representa os Poxvírus que infectam invertebrados, e a Chordopoxvirinae que causa infecção em várias espécies de vertebrados (JONES et al., 2000; SCHATZMAYR, 2001).

Os agentes virais classificados nessa família têm em comum a propriedade de causar lesão cutânea. Sinais clínicos generalizados podem ou não estar presentes (LEWIS-JONES, 2004; STOTT, 2003).

Os Poxvírus que infectam vertebrados (subfamília Chordopoxvirinae) estão distribuídos em oito gêneros: Orthopoxvírus, Yatapoxvírus, Molluscipoxvírus, Suioxvírus, Parapoxvírus, Avipoxvírus, Capripoxvírus e Leporipoxvírus. As espécies que constituem cada gênero estão descritas na tabela 01.

Tabela 01: Poxvírus dos vertebrados

Gênero	Espécie
Orthopoxvírus	Smallpox vírus, Cowpox vírus, Monkeypox vírus, Buffalopox vírus, Vaccinia vírus, Camelpox vírus, Horsepox vírus, Ectromelia.
Parapoxvírus	Estomatite Papular Bovina, Ectima Contagioso (Orf), Pseudovariola Bovina (Paravaccinia).
Avipoxvírus	Canarypox vírus, Juncopox vírus, Turkeypox vírus, Pigeonpox vírus, Sparrowpox vírus.
Capripoxvírus	Goatpox vírus, Sheeppox vírus, Lumpy skin disease vírus.
Leporipoxvírus	Myxoma, Fibroma, Squirrel fibroma vírus, Rabbit fibroma
Suipoxvírus	Swinepox vírus.
Molluscipoxvírus	Vírus do Molusco Contagioso
Yatapoxvírus	Yaba vírus e Tanapox vírus.

Adaptado de: BULLER; PALUMBO, 1991; STOTT, 2003.

Dentre estes, quatro gêneros causam infecção no homem: Orthopoxvírus, Parapoxvírus, Yatapoxvírus e Moluscipoxvírus. A maioria destes são zoonoses, com exceção do Smallpox vírus (um Orthopoxvírus) e do Vírus do Molusco Contagioso (único membro do gênero Moluscipoxvírus), que causam doença exclusivamente no homem (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

As duas espécies do gênero Yatapoxvírus, Tanapox e o Vírus do Tumor de Macaco (Yabavírus) ocorrem exclusivamente na África, em humanos e macacos, que são os únicos hospedeiros naturais susceptíveis ao vírus. A doença espontânea tem sido detectada em macacos asiáticos (BULLER; PALUMBO, 1991; SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

Dos três Parapoxvírus que infectam animais, dois são zoonoses (STOTT, 2003).

Dentro do gênero Orthopoxvírus encontra-se a maioria dos Poxvírus que causam infecção no homem. Algumas espécies deste gênero possuem uma ampla susceptibilidade de hospedeiros enquanto outras infectam poucas ou somente uma espécie (REGNERY, 2007). A tabela 02 representa as espécies deste gênero, seus hospedeiros naturais e distribuição geográfica.

Tabela 02: Orthopoxvírus. Hospedeiros naturais e distribuição geográfica

<i>Orthopoxvírus</i>	<i>Hospedeiros naturais</i>	<i>Distribuição geográfica</i>
Smallpox vírus	Homem	Erradicado
Cowpox vírus	Bovinos, roedores silvestres, gato doméstico, homem.	Europa, Ásia
Monkeypox vírus	Macacos, roedores silvestres, homem	África, América do Norte
Buffalopox vírus	Búfalos, homem	Indonésia, Índia, Egito, Paquistão, Itália e Rússia
Vaccinia	Bovinos, humanos	Indeterminada
Camelpox vírus	Camelos	Ásia e África
Horsepox vírus	Eqüinos	África
Ectromelia	Ratos (camundongos)	Europa

Adaptado de: BULLER; PALUMBO, 1991; STOTT, 2003.

2.3 Orthopoxvírus que Causam Infecção no Homem

Os Orthopoxvírus são morfologicamente indistinguíveis, possuem formas antigênicamente distintas, porém relacionadas entre si e um vírus induz imunidade protetora contra os demais. Todos os Orthopoxvírus produzem corpúsculos de inclusão no citoplasma (STOTT, 2003).

As lesões causadas pelos Orthopoxvírus são indistinguíveis e se apresentam sob as formas proliferativas, ulceradas ou em crostas. Quando os vírus atingem a pele, inicia-se o desenvolvimento de eritema cutâneo caracterizado pelo aparecimento de pequenas manchas que evoluem para vesículas (BREMAN; HENDERSON, 2002).

2.3.1 Smallpox vírus – Varíola dos humanos

O vírus da Varíola humana provavelmente se adaptou ao homem há cerca de 5.000 anos, a partir de roedores selvagens, tendo como intermediários bovinos quando os mesmos foram domesticados. Esta possível transmissão zoonótica primária antecedeu a adaptação para se desenvolver somente no homem. A Varíola teria surgido na Índia, sendo descrita na Ásia e África, séculos antes da era cristã. Introduzida na Europa, já na era cristã, a exemplo de outras doenças como a sífilis e a peste, a Varíola atingia segmentos amplos da população, causando mortes, cegueiras e cicatrizes irreversíveis (SCHATZMAYR, 2001).

O único reservatório conhecido da Varíola é o homem. A transmissão da doença ocorre principalmente por passagem do vírus por contato muito próximo, através de gotículas de saliva e secreções respiratórias que contêm o agente, que se implanta na orofaringe e mucosa respiratória. Porém, o contato com roupas e lençóis também dissemina a infecção. O

contágio indireto a maiores distâncias, através de aerossóis, é bem menos comum. A maior parte dos pacientes se infecta através do contato com a lesão exantematosa inicial (sete a dez dias de evolução). Acredita-se que poucas partículas viáveis do vírus são capazes de iniciar a infecção (BREMAN; HENDERSON, 2002; SCHATZMAYR, 2001).

A infecção pela Variola atinge a mucosa da boca e faringe. O vírus também invade o epitélio superficial da derme originando as lesões cutâneas vesiculares características. O espessamento e a vacuolização do epitélio resultam na formação da vesícula (BREMAN; HENDERSON, 2002).

Clinicamente, a Variola é uma doença exantemática/vesicular com incubação de sete a quatorze dias e evolução clínica de três dias, caracterizada por apreensão, febre súbita e elevada, mal estar e prostração, acompanhados de forte cefaléia e dor lombar. Após este período surge a fase eruptiva que inicia-se com a formação de exantema máculo-papular que progride para pápulas, depois vesículas, pústulas ao final da primeira semana de doença e finalmente crostas que surgem cerca de doze a quatorze dias após o início dos sintomas (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

O exantema afeta a mucosa oral, face e braços, e progride para o tronco e membros. Lesões podem ser observadas na palma das mãos e sola dos pés. O maior número de lesões está localizado na face e nas extremidades (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

As vesículas e pústulas apresentam-se firmemente embebidas na derme, são estruturas rígidas, circulares, elevadas e com alguns milímetros de tamanho. Com a regressão das lesões, as crostas se soltam e na cicatrização podem permanecer marcas irreversíveis na pele em especial no rosto, pela destruição de glândulas sebáceas e formação de fibrose local, em especial quando as lesões foram muito numerosas e confluentes (SCHATZMAYR, 2001).

Na Varicela, que pode ser confundida com a Variola, as lesões são uniformemente distribuídas e raramente aparecem na palma das mãos e na sola dos pés. Além disso, na Variola as lesões aparecem numa única onda, enquanto que na Varicela podem aparecer vesículas, pústulas e crostas ao mesmo tempo (ROOP et al., 1999; SCHATZMAYR, 2001).

Em relação ao aspecto clínico e epidemiológico, existem duas variedades do vírus: Variola Major e Variola Minor, ou Alastrim. A Variola Major era mais virulenta e foi associada a taxas de 5 a 40% de casos fatais comparados com menos de 1 % na Variola Minor (BULLER; PALUMBO, 1991).

Antes da erradicação, a Variola era endêmica no mundo, com exceção da Austrália e algumas ilhas. Por não existir nenhum reservatório animal efetivo do vírus, o programa de imunização global com o Vaccinia vírus, obteve sucesso em erradicar a enfermidade (BULLER; PALUMBO, 1991).

No Brasil, o último caso ocorreu em abril de 1971, fase chamada de fase de ataque, com a vacinação sistemática de toda a população. A campanha de erradicação foi interrompida em 1976-1977. Toda a população nascida após estes anos deve ser considerada susceptível à infecção por Variola (SCHATZMAYR, 2001).

O último caso de infecção natural pelo vírus da Variola no mundo, ocorreu em Outubro de 1977, na Somália. Ainda em Agosto de 1978, na Universidade de Birmingham, Inglaterra, ocorreu um caso fatal de Variola Major associado à infecção laboratorial. Desde 1980, a Variola foi considerada erradicada do mundo (BREMAN; HENDERSON, 2002; ROOP et al., 1999).

Possivelmente, as pessoas que nasceram antes do término da vacinação contra a Variola e que foram vacinadas podem estar parcialmente protegidas e, se expostas, provavelmente desenvolverão doença leve e terão uma menor capacidade de transmiti-la para outras pessoas. A população totalmente susceptível à Variola compreende todas as pessoas que nasceram após o término das campanhas de vacinação (BREMAN; HENDERSON, 2002).

2.3.2 Cowpox vírus - Variola bovina

O Cowpox vírus ocorre na Europa e em alguns países asiáticos vizinhos, é mantido na natureza em várias espécies de roedores, e nunca foi demonstrado nas Américas (CHANTREY et al., 1999). É o único Orthopoxvírus originário do Reino Unido, porém, na maioria da Europa pode ser encontrada tanto infecção pelos Cowpox tradicionais quanto por diferentes cepas (BENNETT et al., 1990).

Como outros Poxvírus, são muito resistentes e podem se manter viáveis sob condições de baixa umidade e temperatura ambiente por vários anos (BENNETT et al., 1990). Possuem uma ampla variedade de hospedeiros evidenciada pela presença de infecções naturais em diferentes espécies como ratos, pequenos roedores silvestres e animais selvagens como leões, antílopes e elefantes. Os vírus isolados de diferentes hospedeiros e região geográficas distintas, diferem um pouco quanto à propriedades biológicas, mas todos apresentam semelhanças com a cepa clássica do Cowpox vírus (BULLER; PALUMBO, 1991).

O vírus pode atingir o homem em geral através de animais domésticos que se infectam a partir de roedores silvestres. A infecção é mais comum em ordenhadores e pessoas que manejam animais domésticos, especialmente bovinos. Várias espécies de roedores podem albergar o vírus na natureza. Gatos domésticos são capazes de se infectar e transmitir a virose ao homem (BAXBY et al., 1994; SHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

O gato doméstico representa atualmente, no Reino Unido, o hospedeiro mais comum do vírus e vários casos em humanos tiveram sua origem através do contato com gatos infectados. A maioria dos gatos infectados pertence à área rural e são caçadores de ratos. Como o reservatório do Cowpox vírus parece ter origem em roedores silvestres, a infecção do gato doméstico deve ocorrer durante o hábito desta espécie de caçar (BAXBY, 1997; BENNETT et al., 1990).

Em uma revisão baseada no estudo de 54 pacientes humanos infectados pelo Cowpox vírus, os estudos epidemiológicos indicaram a importância do gato doméstico como fonte de infecção em 35% dos casos (BAXBY et al., 1994).

O bovino não é o reservatório natural do Cowpox vírus na natureza. Apesar do nome, o Cowpox vírus é raramente isolado de bovinos nos dias atuais e estudos repetidos mostraram que o vírus nunca causou infecção comum na espécie bovina. Infecções em humanos também não são comuns, porém ocorre com maior frequência do que em bovinos (BAXBY, 1997; GIBBS; JONHSON, 1973).

Dez casos de infecção por Cowpox vírus em humanos foram descritos na Inglaterra, entre 1965 e 1979. Sete foram em indivíduos que não tiveram contato direto com bovinos, mas residiam ou foram visitados por pessoas que moravam na área rural. Nenhuma evidência de casos recentes em bovinos nessas localidades, e nem evidências sorológicas de infecção foram encontradas, não sendo possível a comprovação da origem dos surtos dos casos em humanos (BAXBY, 1997).

GIBBS; JONHSON (1973), estudaram um surto de mamilite que afetou três quartos dos bovinos de uma fazenda leiteira no Reino Unido. Havia úlceras de um a três cm de diâmetro nas tetas e quando essas coalesciam, a lesão adquiria um aspecto irregular. Edema local moderado estava presente na maioria das vacas. Dois membros da família dos ordenhadores foram vacinados contra Variola (Smallpox Vírus) três semanas antes do início dos sintomas nos animais sugerindo inicialmente se tratar de uma infecção pelo Vaccinia vírus. No entanto, os resultados laboratoriais indentificaram o Cowpox vírus como agente etiológico do surto.

Um possível surto de Variola Bovina (Cowpox vírus) no município de Prata, MG, afetou 4800 bovinos e 100 humanos. Os animais apresentaram úbere edemaciado e quente e sensibilidade aumentada no úbere e tetas. Após três dias, surgiram pápulas que se

transformaram em vesículas em 24 a 48 horas. As vesículas, com líquido seroso e com depressão central (umbilicadas), evoluíam para pústulas que se rompiam com posterior formação de crostas. Os pacientes humanos apresentaram febre alta por cinco dias, adenopatia axilar dolorosa, vesícula com necrose central ou pequenos nódulos com evolução para ulceração nos dedos, braços e antebraços (SILVA et al., 1986).

O Cowpox vírus é infeccioso para o homem e em geral causa lesão cutânea localizada principalmente nas mãos e dedos. Por auto-inoculação podem aparecer lesões em outras partes do corpo e na face. As lesões possuem aspecto semelhante a provocada pela vacinação anti-variólica, se iniciam como pápula e evoluem para vesículas em quatro a cinco dias, posteriormente pústulas, úlceras, até a cura completa que ocorre cerca de 3 semanas após o início (BAXBY et al., 1994).

No estudo de BAXBY (1997), dos dez casos de Cowpox vírus em humanos, seis apresentaram grave sintomatologia e quatro necessitaram de internação hospitalar. As lesões se localizavam principalmente nas mãos, e também no pescoço e face. Apenas um adulto recebeu vacinação anti-variólica anteriormente.

O desenvolvimento da lesão cutânea por infecção pelo Cowpox vírus em humanos, geralmente é acompanhado por edema local e sintomas sistêmicos de linfadenite, náuseas, febre, e cefaléia. Infecções sistêmicas graves têm sido descritas principalmente em indivíduos imunodeprimidos (BAXBY, 1997; BAXBY et al., 1994; BENNETT et al., 1990).

Embora o Cowpox vírus possa causar doença grave no homem, a infectividade do vírus em humanos é relativamente baixa e a contaminação pode ser prevenida através de simples cuidados de higiene. A transmissão de pessoa a pessoa não foi relatada durante o estudo de 54 casos em humanos (BENNETT et al., 1990).

Os Cowpox vírus são antigenicamente muito relacionados ao Smallpox vírus e estes vírus se diferenciam laboratorialmente somente por provas de fixação de complemento, difusão em gel de ágar, e absorção de anticorpos (ACHA; SZYFRES, 2003). Histologicamente, as lesões assemelham-se as da Variola, com inclusões e vesiculações detectáveis (JONES et al., 1997).

A moléstia nas vacas deve ser diferenciada de infecções pelo Herpes Vírus 2 (Mamilita Herpética Bovina) e por Parapoxvírus. As lesões em infecções pelo Cowpox vírus são semelhantes, porém menos extensas do que as úlceras associadas à Mamilita Bovina (ACHA; SZYFRES, 2003; GIBBS et al., 1973; JONES et al., 1997).

As medidas preventivas indicadas e o caráter auto-limitante da doença no homem e nos animais permitiram o desaparecimento da doença, após um período de 03 meses desde o início da enfermidade (SILVA et al., 1986).

2.3.3 Monkeypox vírus

O Monkeypox vírus tem estreita relação antigênica com o vírus da Variola (Smallpox vírus) e o Vaccinia vírus (ACHA; SZYFRES, 2003). Trata-se de uma zoonose relativamente rara que ocorre em regiões com florestas tropicais na África Central e Ocidental. Apesar da denominação do vírus, se trata de uma infecção de vários animais silvestres, como esquilos e outros roedores usados na alimentação das populações da região, e que, eventualmente, atinge primatas (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005). Os macacos são infectados esporadicamente, assim como o homem (ROOP et al., 1999).

A infecção humana nunca tinha sido observada fora da África e a circulação do vírus era evidenciada apenas nas regiões centrais deste continente. Recentemente o vírus foi introduzido nas Américas e causou infecção clínica em crianças que mantiveram contato com roedor utilizado como animal de estimação (pet), importado da África (ANDERSON et al., 2003; SHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

Assim como na Variola, a porta de entrada para a infecção pelo Monkeypox vírus são áreas de abrasão da pele ou a mucosa do trato respiratório superior (ROOP et al., 1999). O período de incubação no homem é em média de doze dias (LEWIS-JONESS, 2004).

A apresentação clínica no homem é bastante semelhante à Variola, porém, há uma notável linfadenopatia, que não se observa na Variola. A infecção atinge principalmente crianças e é adquirida tanto pela inoculação cutânea quanto através de inalação (LEWIS-JONE

S, 2004; ROOP et al., 1999). A evolução de máculas a pápulas, vesículas, pústulas e crostas, se dá em torno de dez dias e a erupção pode se desenvolver simultaneamente no corpo e na face (ACHA; SZYFRES, 2003).

A transmissão de pessoa a pessoa não ocorre com facilidade. A taxa de transmissão entre humanos é de apenas 7,5 % (ACHA; SZYFRES, 2003; SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005). ROOP et al. (1999) citam taxa de ataque em torno de 9% entre pessoas não vacinadas contra Variola.

2.3.4 Bufalopox vírus

O Bufalopox vírus é um Orthopoxvírus muito similar ao Vaccinia vírus que afeta búfalos de água (*Bubalus bubalis*) e causa lesões predominantemente nas tetas e úberes, similares às ocasionadas pela Variola bovina. Está presente na Indonésia, Índia, Egito, Paquistão, Itália e Rússia (ACHA; SZYFRES, 2003; JONES; HUNT, 2000).

Trata-se de uma zoonose que produz enfermidade similar, porém de menor importância, do que o Cowpox vírus em humanos. As lesões são encontradas nas mãos e dedos e raramente ocorrem sintomas sistêmicos (LEWIS-JONES, 2004).

É provável que o Bufalopox vírus possa ser um representante do Vaccinia vírus utilizado durante a erradicação da Variola, que pode ter escapado para a natureza e causado infecção em búfalos. Na década de 60, pessoas recentemente vacinadas transmitiram a enfermidade para seu rebanho. Análises genéticas confirmaram a estreita relação entre os genes isolados do Bufalopox vírus e o genoma viral do Vaccinia vírus (LEWIS-JONES, 2004; REGNERY, 2007).

2.3.5 Vaccinia vírus

O Vaccinia vírus (VACV) é um Orthopoxvírus de aproximadamente 300 a 400 nm de diâmetro, que foi utilizado para a vacinação na prevenção da Variola e que confere imunidade também contra outros Orthopoxvírus. Sua utilização permitiu a erradicação da Variola no mundo (REGNERY, 2007; ROOP et al., 1999; STOTT, 2003).

A origem do vírus Vaccinia não é perfeitamente conhecida, devido às inúmeras manipulações que sofreram os materiais animais e humanos usados nas primeiras décadas das práticas de vacinação. Uma hipótese provável é a de que o vírus se originou do Cowpox vírus, reconhecendo-se a existência de várias amostras de Vaccinia com virulências diferentes e que foram utilizadas para o preparo de vacinas (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

O vírus Vaccinia pode ter sido originado de um Cowpox vírus, mas a sua origem é incerta, visto que é muito distinto de seu proposto ancestral (STOTT, 2003).

A infecção pelo Vaccinia vírus não é totalmente considerada como de ocorrência natural, embora transmissão de ordenhadores para vacas e de vacas para o homem tenham ocorrido, em propriedades rurais, durante as campanhas de erradicação da Variola (ROOP et al., 1999)

Na ocasião da vacinação humana, a cepa vacinal viva era inserida na camada basal da epiderme para obtenção do máximo efeito. A imunidade após a vacinação declina com o

tempo, sendo necessária uma revacinação anual para assegurar proteção (LEWIS-JONES, 2004).

Anticorpos neutralizantes persistem em 75% de pessoas vacinadas por dez anos e por cerca de trinta anos nos indivíduos que receberam três doses da vacina. Há sólida imunidade cinco anos após a vacinação primária e uma imunidade menor, porém ainda persistente, por pelo menos dez anos (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

A vacinação primária com o Vaccinia vírus produz lesão cutânea e causa uma típica escara (LEWIS-JONES, 2004). A evolução da lesão vacinal ocorre em torno de quatorze dias, com a formação de uma pápula e posteriormente pústula contendo linfa turva. A pústula evolui para crosta escura que cai após cerca de três semanas. Febre em torno de 39 ° C por um dia e linfadenopatia regional podem ocorrer, com evolução normalmente sem conseqüências para o vacinado (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

Complicações raramente ocorriam quando se utilizavam as vacinas testadas e autorizadas no país. Raros efeitos secundários incluíam encefalite pós-vacinal, eczema vaccinatum, Vaccinia generalizada e envolvimento ocular (LEWIS-JONES, 2004).

A vacinação em pacientes imunodeprimidos podia ser letal e era contra-indicada. Podia ser realizada com cautela e com baixas doses da imunoglobulina Vaccinia, em pacientes com risco elevado de contrair a Varíola (LEWIS-JONES, 2004).

O eczema vaccinatum era uma complicação grave e eczema ativo ou curado ocorria tanto no vacinado como em seus contatos, uma vez que o vírus Vaccinia é eliminado a partir da lesão vacinal ao longo de duas semanas (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

REIS et al (1970) utilizaram vacina anti-variólica humana em bovinos clinicamente saudáveis e após sete dias observaram, na maioria dos animais, presença de reação local pós-vacinal, o que demonstra a alta susceptibilidade dos bovinos à vacina humana. Esses animais foram colocados juntos a um rebanho infectado e apenas um dos animais que exibiu reação local após a vacina, apresentou lesões.

2.3.5.1 Infecção Natural Pelo Vaccinia vírus nas Décadas de 60 e 70

Desde 1960, infecções por Orthopoxvírus têm sido repetidamente isoladas no Brasil e são associadas ao Vaccinia vírus através de classificação imunológica, virológica e métodos moleculares (TRINDADE et al., 2007).

Em 1961, um Poxvírus foi isolado de camundongos suíços colocados como sentinelas num estudo para identificar a atividade dos arbovírus, em uma região de mata secundária, em Cotia, município de SP. O novo vírus foi denominado Cotia vírus e inicialmente considerado como um gênero a parte dentro da família Poxviridae. Uma amostra foi levada ao laboratório para isolamento e um Vaccinia-like vírus foi identificado. Outras amostras do Cotia vírus foram consistentemente isoladas em diferentes localidades e a classificação do vírus tem sido contraditória. Foi sugerida uma classificação intermediária entre uma leporipoxvírose e uma orthopoxvírose (LOPES et al., 1965; TRINDADE et al., 2007; UEDA et al., 1978).

Em 1963, o Poxvírus Be An 58058, um Orthopoxvírus naturalmente atenuado, foi isolado do sangue de um roedor silvestre (*Oryzomys spp.*) capturado próximo a uma área desmatada a beira da Floresta Amazônica. Este vírus está entre uma das primeiras orthopoxvíroses naturalmente isoladas a partir de um roedor silvestre no Brasil e demonstrou ser antigenicamente relacionado ao Cotia vírus. A análise do DNA viral detectou a presença de genes homólogos ao Vaccinia vírus, amostra WR, e, baseado nestes achados, foi proposto que o Be Na 58058 é uma variante do Vaccinia vírus (FONSECA et al., 1998; TRINDADE et al., 2007).

Em 1979, um vírus isolado de ratos sentinelas que estiveram presentes em região de mata, no município de Cotia, SP, foi isolado e denominado SPAnv. Inicialmente o vírus foi

classificado como sendo um Cotia vírus, porém, após seu isolamento, apresentou características genéticas que indicaram ser uma amostra do Vaccinia vírus isolado no campo. O autor acredita na possibilidade de que o SPANv tenha origem em amostras de cepas vacinais que escaparam para a natureza durante a campanha de vacinação contra a Variola (FONSECA et al., 2002).

Em El Salvador, uma epidemia causada pelo Vaccinia vírus envolvendo 22 pessoas e 450 vacas numa fazenda, provavelmente originou-se de pessoas recém-vacinadas. A evolução clínica nas vacas foi em média de duas semanas e as lesões eram nodulares, pustulares e ulceradas. O isolamento viral em MCA e a produção de lesões específicas a partir de amostras de cinco pacientes humanos e uma vaca, eliminou a possibilidade da moléstia ter sido causada pelo vírus dos nódulos do ordenhador (Parapoxvírus) ou pelo Cowpox vírus. Os testes de neutralização com cepas de referência do Vaccinia vírus, não deixaram dúvidas de que se tratava de um VACV e revelaram identidade entre as cepas dos animais e dos humanos afetados. Os vírus se propagaram bem em cultura de tecido celular e produziram efeito citopático dois a sete dias após inoculação (LUM et al., 1967).

A vacinação contra Variola foi responsável pela disseminação, em curto prazo, de grandes quantidades do Vaccinia vírus, que atingiram vacas leiteiras de uma propriedade em Barra do Pirai, RJ, após o contato com trabalhadores rurais, recentemente vacinados. Um grande número de animais apresentou lesões restritas ao úbere, caracterizadas por crostas de tamanho irregular, com confluência de várias lesões. Nenhum sintoma adicional foi observado (MESQUITA; SCHATZMAYR, 1969). A presença de anticorpos em todos os soros testados confirmaram uma infecção recente por um vírus do grupo pox e lesões típicas do Vaccinia vírus foram visualizadas através do isolamento viral após inoculação das crostas em MCAs de ovos embrionados de onze dias.

Em duas fazendas do município de Patos de Minas, MG, foram evidenciadas lesões nas tetas e úbere de vacas em lactação e na região do focinho de um bezerro, semelhantes à Variola bovina. Aparentemente, as lesões em bovinos foram causadas pelo Vaccinia vírus, tendo como fonte de infecção o homem recém- vacinado (REIS et al., 1970).

No estudo de SCHATZMAYR; DENNE (1974), a resposta imunológica após a infecção experimental em bovinos com o Vaccinia vírus, amostra do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), foi obtida através da titulação de anticorpos inibidores de hemaglutinação, fixadores de complemento, neutralizantes e precipitantes. Concluiu-se que os anticorpos da classe das IgM, surgem rapidamente e regridem a títulos mínimos cerca de trinta dias após a infecção, sendo útil no diagnóstico precoce de infecção recente pelo grupo pox. Os anticorpos neutralizantes permaneceram elevados após quatro semanas e os títulos dos anticorpos inibidores, neutralizantes e fixadores, alcançaram o máximo em dez dias após a infecção, semelhante ao que ocorre em humanos após vacinação.

A vacinação de animais clinicamente sadios com vacina anti-variólica humana produziu alta percentagem de reação local pós-vacinal, o que demonstra a alta susceptibilidade dos bovinos à vacinação. Uma aparente adequação ao desafio natural foi demonstrada com a ausência de lesões em praticamente todos os animais expostos ao rebanho contaminado. Nenhum efeito paralelo foi notado (REIS et al., 1970).

A vacinação de quarenta e cinco ordenhadores contra a Variola (Smallpox vírus), resultou na transmissão do Vaccinia vírus para vacas em lactação, seis a quatorze dias após a vacinação humana. A transmissão para as vacas ordenhadas ocorreu apenas através do contato direto com os ordenhadores vacinados e o vírus não foi transmitido de animal para animal. No início as lesões tinham aspecto máculo-papular. Num estágio mais avançado, apareciam como pústulas que persistiram por um a dois dias e, após a liberação do conteúdo, se transformavam em crostas secas e marrons escuras e posteriormente ulcerações. Observaram-se múltiplas lesões no mesmo úbere e, em alguns casos, os quatro tetos foram afetados. A

duração da infecção nas vacas ultrapassou o período de 3 semanas e causou dor durante a ordenha e redução na produção de leite. Alguns animais apresentaram infecção bacteriana secundária (TOPCIU et al., 1976).

A contaminação reversa, com casos humanos adquiridos a partir de animais infectados com amostras de Vaccinia vírus, também foi descrita em uma epidemia de El Salvador. Descreveu-se a predominância de lesões nodulares e ulceradas nas mãos e face dos pacientes humanos. Todos os pacientes eram ordenhadores e as lesões eram dolorosas e acompanhadas de mal estar generalizado e febre (LUM et al., 1967).

Em Barra do Piraí, no estudo de MESQUITA; SCHATZMAYR (1969), ocorreram dois casos em ordenhadores não-vacinados, confirmados pelas provas sorológicas de fixação de complemento e inibição da hemaglutinação, o que demonstra uma provável contaminação a partir das lesões nos animais. Ambos apresentaram lesões vesiculares pequenas e dolorosas, na palma das mãos e entre os dedos, que evoluíram sem maior gravidade.

Clinicamente é impossível a diferenciação de Variola Bovina causada pelo Cowpox vírus da causada pelo Vaccinia vírus. As provas laboratoriais de isolamento viral e identificação do vírus são fundamentais e indispensáveis para o esclarecimento das epizootias (MESQUITA; SCHATZMAYR, 1969; REIS et al., 1970).

Epidemiologicamente, as epizootias pelo Vaccinia vírus assumem um caráter de disseminação maior entre os animais, ao contrário das infecções pelo Cowpox vírus, que evoluem lentamente e se disseminam em menor velocidade. Medidas profiláticas foram capazes de restringir a infecção apenas aos currais onde ela se manifestou. Apesar disso, um grande número de animais foi atingido em curto prazo (MESQUITA; SCHATZMAYR, 1969).

2.3.5.2 Infecções Recentes Causadas por Cepas Derivadas do Vaccinia vírus

Embora a Variola tenha sido declarada erradicada pela OMS, desde 1980, o interesse por infecções causadas por Poxvírus vem crescendo. Em décadas recentes, várias cepas do Orthopoxvírus Vaccinia vírus, têm sido isoladas por todo Brasil, inclusive de isolados geneticamente distintos em um mesmo surto (TRINDADE et al., 2006; TRINDADE et al., 2007).

Desde o final da década de 90 houve um aumento exacerbado no número de relatos de surtos de uma doença semelhante à Variola bovina que afetava o gado leiteiro e trabalhadores rurais em contato direto com os animais, em diferentes regiões do país, como no Vale do Paraíba, no Estado de São Paulo e Goiás, no município de Cantagalo e Piraí, no Rio de Janeiro, na região sul do Espírito Santo e na Zona da Mata e Sudeste de Minas Gerais. Estes surtos comprometeram centenas de propriedades e milhares de cabeças de gado em todas as regiões, bem como um grande número de ordenhadores (DAMASO et al., 2000; DONATELE et al., 2007; LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2004; LOBATO et al., 2005; NAGASSE-SUGAHRA et al., 2004; SCHATZMAYR et al., 2000; TRINDADE et al., 2003; TRINDADE et al., 2006). Em muitos destes locais, o diagnóstico laboratorial foi realizado a partir de isolamento viral, microscopia eletrônica, sorologia e por técnicas de biologia molecular e os poxvírus envolvidos nos surtos foram classificados como sendo do gênero Orthopoxvírus, mais precisamente variantes do Vaccinia vírus.

No final de 1999, ocorreu um surto de uma doença exantemática em vacas de leite de Cantagalo e Santo Antônio de Pádua, municípios do nordeste do RJ, com transmissão para muitos ordenhadores e destes para alguns membros da família. As vacas apresentaram pápulas nas tetas e úbere que evoluíam para vesículas e pústulas com cura até três semanas, e posteriormente uma cicatriz no local. Houve mastite e infecção bacteriana secundárias em algumas vacas. Os ordenhadores contaminados adquiriram lesões nas mãos e/ou antebraços,

com febre alta e linfadenopatia axilar. Alguns casos severos generalizaram para lesões vesiculares em todo o corpo. O diagnóstico foi realizado através de inoculação do líquido vesicular das lesões em MCAs, microscopia eletrônica, titulação dos anticorpos virais, PCR e sequenciamento do gene HA. Os resultados revelaram a caracterização de um novo Ortopoxvírus, o Cantagalo vírus, similar ao Vaccinia vírus, amostra IOC (cepa vacinal utilizada pelo Instituto Oswaldo Cruz, durante a campanha de vacinação contra a Variola). Este estudo representou um exemplo de uma possível persistência do Vaccinia vírus na natureza (DAMASO et al., 2000).

LOBATO et al. (2005) estudaram, em 2001, casos de uma doença exantemática em bovinos e humanos de vinte municípios da Zona da Mata Mineira, com predominância dos casos entre os meses de julho a setembro. A ordenha manual era realizada em 92% das propriedades e a taxa de ataque nas vacas em lactação foi de 80 a 100% em ordenhas manuais, e de 25 a 30 % com a utilização de ordenhadeiras mecânicas. A doença afetou 1020 vacas em lactação que apresentaram lesões vesiculares nos tetos com evolução para crostas e erosões, queda na produção de leite na maioria das propriedades e infecção bacteriana secundária. Em 21% das propriedades houve lesões orais em bezerros lactantes. Dos 110 casos humanos, a maioria ocorreu em ordenhadores (24% tinham menos de 24 anos), porém, em cinco propriedades houve a contaminação de outros membros da família. Alguns ordenhadores trabalhavam alternadamente em diferentes propriedades, o que pode ter contribuído para introdução da doença. Todos apresentaram lesões vesiculares nos dedos, que evoluíram para pústulas, crostas e erosões. Alguns relataram prurido intenso no local das lesões, febre e linfadenopatia axilar. A evolução clínica foi de 15 a 30 dias, tanto em humanos como nos animais. Os dados epidemiológicos e o diagnóstico laboratorial possibilitaram a identificação do agente causal como um vírus do gênero Ortopoxvírus, similar ao Vaccinia vírus.

Em outubro de 2001, vacas em lactação de 72 propriedades de Guarani, sudeste de MG, apresentaram lesões nas tetas em forma de pústulas que evoluíram para úlceras e para cicatrização após algum tempo. Houve transmissão para os ordenhadores que tiveram contato direto com as lesões em 83% das propriedades, além de casos de transmissão interhumana. O quadro clínico nos pacientes durava em média quinze dias e consistia em pápulas e úlceras dolorosas nas mãos, febre, linfadenite e, eventualmente, infecção bacteriana secundária. O diagnóstico foi realizado por isolamento viral e PCR e identificou duas populações geneticamente distintas de cepas do Vaccinia vírus, isoladas do mesmo surto, denominadas Guarani P1vírus e Guarani P2 vírus. Essas viroses podem ter tido a mesma origem e derivarem de cepas do Vaccinia vírus que após escapar para natureza, se diferenciou por mutações e recombinações durante a circulação (TRINDADE et al., 2006).

NAGASSE-SUGAHARA et al. (2004) estudaram casos humanos de poxviroses em 74 ordenhadores, a maioria com menos de 30 anos de idade, entre outubro de 2001 a julho de 2003. Os surtos ocorreram no Vale do Paraíba, em São Paulo e Minas Gerais, e no Vale de São Patrício, em Goiás, com predomínio de pequenas propriedades com ordenha manual e proximidade entre elas, fatos que contribuíram para disseminação. Os pacientes apresentaram lesão na pele, na maioria em mãos e face, em forma de vesículas com secreção, febre, sudorese, cefaléia, perda do apetite, prurido nas lesões e aumento dos gânglios axilares. Três deles apresentaram doença grave e necessitaram de internação hospitalar. A microscopia eletrônica demonstrou partículas virais características de Ortopoxvírus e o isolamento viral em MCAs e células Vero, revelou lesões semelhantes às do Vaccinia vírus. O sequenciamento genético e a digestão enzimática demonstraram tratar-se de vírus derivado do Vaccinia vírus, similar ao Cantagalo vírus.

Entre agosto de 2002 a maio de 2005, ocorreram surtos de doença pústulo-vesicular no gado bovino de propriedades de exploração leiteira em municípios do Sul do Espírito Santo,

com características clínicas e epidemiológicas semelhantes aos casos descritos no Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais. A maioria dos casos teve início entre os meses de maio a setembro. Em quase todas as propriedades estudadas relatou-se a presença de ordenhadores com lesões semelhantes às observadas nos animais. Constatou-se perda econômica, principalmente relativa à queda na produção de leite e contratação de novos funcionários para ordenha. Através do isolamento viral e PCR do gene Timidina Quinase (TK), identificou-se um vírus do gênero Orthopoxvírus, provavelmente um Vaccinia – like vírus (DONATELLE et al., 2007).

Um surto envolvendo vacas e humanos foi descrito em 2003 em uma propriedade em Araçatuba, São Paulo. A evolução do surto na propriedade durou três meses e envolveu 35 vacas em lactação e um ordenhador. Todas as vacas afetadas apresentaram queda na produção de leite e lesões dolorosas nas tetas e úberes que dificultavam a ordenha, caracterizadas inicialmente por uma pápula avermelhada que evoluía para lesões ulcerativas. A ordenha era feita por um único ordenhador e sem assepsia. Este paciente apresentou dez feridas nas mãos e braços. O vírus identificado foi denominado Araçatuba vírus e apresentou, através das análises genéticas, muitas semelhanças em relação à genes homólogos do Vaccinia vírus - WR e do Cantagalo vírus. O Araçatuba vírus pode representar uma outra cepa variante do Vaccinia vírus ou representar uma extensão do Cantagalo vírus (TRINDADE et al., 2003).

Em 2003, um Poxvírus denominado Passatempo vírus foi isolado entre os meses de abril e setembro, em Passatempo, MG, de propriedades rurais que realizavam a ordenha manual sem nenhum tipo de assepsia. Vários ordenhadores se infectaram a partir do contato direto com lesões vesículo-pustulares de tetas e úberes de vacas leiteiras, semelhantes às lesões causadas pelo Araçatuba vírus. Nos animais, o quadro clínico teve evolução de três a quatro semanas. Algumas vacas apresentaram mastite bacteriana secundária. Após a ruptura das pústulas, as lesões nas tetas evoluíam para crostas e posteriormente formaram cicatrizes escuras e espessas, e grandes áreas ulceradas. Algumas vacas apresentaram mastite bacteriana secundária. Bezerros lactentes tiveram lesões na mucosa oral e região do focinho. Os pacientes humanos apresentaram lesões dolorosas nas mãos, cefaléia, dor no corpo, linfadenopatia e febre alta. As análises genéticas sugeriram uma forte relação entre o Passatempo vírus e outras cepas do Vaccinia vírus isoladas anteriormente no Brasil. O seqüenciamento do gene hemaglutinina (HA) do vírus demonstrou características similares ao Cantagalo vírus e ao Araçatuba vírus, que não são observadas em cepas do Vaccinia vírus, sugerindo uma origem independente. O isolamento de uma nova cepa reforça a hipótese de que o Vaccinia vírus está circulando na natureza e esta virose pode se tornar endêmica nesta região (LEITE et al., 2005).

Casos de poxviroses em bovinos foram diagnosticados em municípios do Noroeste do Estado do Rio de Janeiro (Cordeiro, Cantagalo, Aperibé, Santo Antônio de Pádua, Cambuci e Miracema) entre os anos de 1999 e 2007. A cepa viral envolvida nos surtos foi identificada através da Reação em Cadeia de Polimerase como uma amostra do Vaccinia vírus. Contaminação humana associada à infecção animal também foi descrita (SIMONETTI et al., 2007).

LERER et al. (2007) descreveram um caso de internação hospitalar de um homem de vinte e seis anos que apresentava lesões nodulares e ulceradas. O paciente era da área rural do interior do Estado do Espírito Santo e tinha histórico de contato com lesões semelhantes nas tetas de vacas. O diagnóstico laboratorial foi conclusivo para infecção recente por cepa do Vaccinia vírus.

Estudos preliminares com roedores silvestres foram realizados por SCHATZMAYR em localidades do Noroeste do Estado do Rio de Janeiro, durante a estação seca (nos meses de maio e setembro). Um roedor coletado (*Akodon spp.*) apresentou baixos títulos de anticorpos neutralizantes para Orthopoxvírus. Em Janeiro de 2008, em Paraty, Sul do Estado do Rio de

Janeiro, outro estudo preliminar de SCHATZMAYR resultou em sorologia positiva para o grupo Orthopoxvírus em um roedor do gênero *Oryzomys*. Porém, mais estudos são necessários para a confirmação da presença da infecção em roedores (informação pessoal)¹.

Uma explicação para estes achados seria à associação dessas viroses com uma possível “escapagem” para o ambiente, de cepas vacinais utilizadas durante a campanha de erradicação da Varíola. Estas cepas podem ter permanecido no ambiente através de hospedeiros silvestres desconhecidos e serem transmitidas aos animais e humanos (TRINDADE et al., 2003).

REGNERY (2007), em uma revisão recente, enfatiza a capacidade dos Orthopoxvírus em se adaptar a uma nova espécie animal.

A crescente distribuição geográfica destes surtos de cepas do Vaccinia vírus, indica que essas viroses podem estar emergindo como uma zoonose de bovinos e que, em muitos casos, a origem parece estar relacionada à vacina contra a Varíola, utilizada durante a campanha de vacinação (LEITE et al., 2005).

2.4 Parapoxvírus que Causam Infecção no Homem

Os Parapoxvírus são menores e antigenicamente distintos dos Orthopoxvírus. São vírus de morfologia ovóide e suas dimensões são de aproximadamente 260 nm X 160 nm (ACHA; SZYFRES, 2003; LEWIS-JONES, 2004).

Dentro do gênero Parapoxvírus encontramos o vírus denominado “Orf”, que é transmitido ao homem por ovinos e caprinos, o vírus denominado Pseudocowpox vírus, Paravaccinia ou Pseudovaríola Bovina, transmitido por bovinos e agente do nódulo do ordenhador no homem, e o Vírus da Estomatite Papular, igualmente originário de bovinos (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

Tanto o vírus Orf como o Pseudocowpox ocorrem no país, sendo agentes de infecções animais e humanas (BARTH et al., 2005; MAZUR et al., 2000; SCHATZMAYR et al., 2000).

As infecções humanas por vírus deste grupo são normalmente adquiridas por atividades profissionais no manejo de animais domésticos, principalmente pela implantação dos vírus em lesões existentes na pele das mãos e dedos. A transmissão da infecção por Parapoxvírus de humanos para humanos raramente ocorre (LEWIS-JONES, 2004; ROOP et al., 1999; SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

Os Parapoxvírus são relativamente estáveis sob condições normais e possuem boa capacidade de sobrevivência nos pastos, crostas secas (por longos períodos) e em materiais inanimados (BARTH et al., 2005; LEWIS-JONES, 2004).

O diagnóstico de infecção pelos Parapoxvírus é feito com base em dados clínicos e história de contatos com animais que apresentam lesões vesiculares ou ulceradas, além do exame ultramicroscópico, através da qual podem ser visualizadas as partículas virais. Os Parapoxvírus se distinguem dos Orthopoxvírus por seu aspecto mais alongado (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

Em contraste com os Orthopoxvírus, o cultivo dos Parapoxvírus em laboratório é bastante difícil e exige células da espécie animal que apresentou lesões. Esta metodologia não é aplicável no diagnóstico laboratorial (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

A infecção por Parapoxvírus no homem pode ser facilmente reconhecida por profissionais de saúde, em áreas endêmicas (LEWIS-JONES, 2004).

A imunidade natural é de pequena duração e o controle de enfermidades causadas por Parapoxvírus nos animais, consiste basicamente de medidas de higiene durante a ordenha (ACHA; SZYFRES, 2003).

¹ SCHATZMAYR, H. G. Instituto Oswaldo Cruz. 2008

2.4.1 Pseudovariola ou Paravaccinia

Apesar da nomenclatura, o Paravaccinia não tem qualquer semelhança com o Vaccinia vírus, porém está intimamente relacionado ao vírus Orf, e ao Vírus da Estomatite Papular Bovina (JONES et al, 2000).

A Pseudovariola é uma enfermidade distribuída mundialmente, enzoótica em bovinos, principalmente os leiteiros. Nos países onde a ordenha é manual, a enfermidade em humanos é relativamente freqüente, porém pouco estudada. As lesões produzidas são clinicamente muito semelhantes às produzidas pelos Ortopoxvírus (ACHA; SZYFRES, 2003; LOBATO et al., 2005).

As lesões por Pseudocowpox se limitam às tetas e úberes de vacas leiteiras e surgem como pápulas e vesículas avermelhadas. Lesões orais em bezerros lactentes podem ocorrer, o que ajuda a transmitir a infecção quando estes mamam em outras tetas (JONES et al., 2000).

As lesões encontradas na Pseudovariola, tanto nos homens quanto nos animais, se caracterizam por eritema, pequenas pápulas que evoluem para crostas vermelho-escuras. O processo se espalha radialmente e apresenta um centro umbilicado dando uma aparência anelar ou de ferradura. Raramente são observadas úlceras. Nos homens, estas lesões características recebem o nome de "nódulo do ordenhador", são relativamente indolores e apresentam geralmente prurido intenso e cura de quatro a seis semanas (LOBATO, 2005).

SCHATZMAYR et al. (2000) realizaram um estudo preliminar de casos de poxviroses bovina e humana no município de Pirai, RJ. Trabalhadores em contato com lesões nas tetas de vacas leiteiras apresentaram pápulas, vesículas e pústulas em diferentes partes do corpo. As partículas visualizadas através da microscopia eletrônica eram características de Parapoxvírus.

SARTORI-BARRAVIEIRA et al. (1997), estudaram dez casos humanos de nódulo do ordenhador em que as lesões eram papulares ou nodulares e se localizavam nas mãos, variando em número de um a três. Um dos pacientes também apresentou linfangite e outro apresentou febre. Houve involução das lesões em aproximadamente quatro semanas. Todos tinham profissões que implicavam em contato direto com animais ou carne *in natura* (ordenhadores, veterinários, açougueiros ou dona de casas).

O nódulo do ordenhador, causado pelo Pseudocowpox vírus, surge cerca de cinco a sete dias após o contato com a fonte de infecção e forma uma pápula eritematosa e pruriginosa que evolui para uma estrutura esférica, firme e elástica, fortemente vascularizada e de cor púrpura, que atinge o tamanho de meio a dois cm. As lesões não são dolorosas e geralmente não ocorrem sintomas sistêmicos. O processo regride ao longo de seis semanas e raramente forma cicatriz (ACHA; SZYFRES, 2003; SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

A Pseudovariola Bovina se confunde clinicamente com a Variola Bovina (Cowpox vírus) e com a infecção pelo Vaccinia vírus. Geralmente, as infecções causadas por Parapoxvírus são mais brandas que as causadas pelos outros dois agentes (ACHA; SZYFRES, 2003; LOBATO et al., 2005).

O agente da Pseudovariola bovina não se replica na membrana corioalantóidea (MCA) de células de embrião de frango, que constituem um bom substrato para a multiplicação do Vaccinia vírus e do Cowpox vírus. No entanto, pode ser isolado de material das lesões cultivadas em células de rim de bovino e causar efeito citopático (ACHA; SZYFRES, 2003).

2.4.2 Ectima Contagioso ou Orf vírus

O Ectima Contagioso ou Orf vírus, causa uma infecção muito comum em caprinos e ovinos denominada Dermatite Pustular Contagiosa, reconhecida desde o século 18. Nesses

animais, formam-se lesões vesiculares ou pustulares nos lábios, membranas mucosas orais, úbere e raramente nos membros (JONES et al, 2000; SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

As lesões cutâneas observadas em ovinos contaminados em dois rebanhos do Estado do Rio de Janeiro se localizavam ao redor dos lábios e focinho, gengiva, orelhas, membro anterior e úbere, e os animais apresentaram anorexia e desidratação. As lesões evoluíram de vesículas para crostas em aproximadamente dez a doze dias (BARTH et al., 2005). Todos os animais se recuperaram, porém perdas econômicas ocorreram devido à diminuição no ganho de peso durante a evolução da infecção.

A mortalidade é baixa, ao menos que haja complicações por larvas de miíases ou por alguma infecção bacteriana. A enfermidade é mais grave em cordeiros e cabritinhos (JONES et al, 2000).

As lesões no homem pelo Orf vírus são, em geral, múltiplas e atingem as mãos, dedos, face e pescoço. Lesões oculares surgem por auto-inoculação e podem gerar sérias seqüelas, incluindo opacidade de córnea e infecção secundária. A lesão progride de uma máculo-pápula para um nódulo elevado e ulcerado com um halo de reação inflamatória, termina com formação de crosta seguida de regeneração epitelial. O quadro é doloroso e pode haver febre e reação ganglionar regional (ROOP et al., 1999; SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA, 2005).

A origem da infecção de ovinos pelo Ectima Contagioso pode se dar devido à introdução de animais novos no rebanho ou através do contato próximo entre roedores silvestres e animais afetados, elucidando uma possível fonte de infecção. A incidência desta enfermidade pode estar aumentando devido ao desequilíbrio ecológico, especialmente por destruição do ecossistema de roedores silvestres, reservatórios de alguns vírus do grupo Pox (BARTH et al., 2005).

Num estudo de Parapoxvirose em ovinos de corte no Estado do Rio de Janeiro, a microscopia eletrônica revelou grandes partículas virais, 250 a 150 nm, e morfologia ovóide, típica de parapoxviroses, porém nenhum efeito citopático foi observado na inoculação viral em culturas de células Vero (BARTH et al., 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Locais de Ocorrência dos Surtos

O presente estudo foi realizado, entre maio de 2006 a outubro de 2007, em trinta e quatro propriedades de gado de leite que apresentaram casos de bovinos com lesões vesiculares, principalmente nos tetos de vacas em período de lactação, com transmissão para humanos (ordenhadores). As propriedades estavam localizadas em seis municípios (Valença, Barra do Pirai, Pirai, Rio das Flores, Resende e Rio Claro) da região Sul do Estado do Rio de Janeiro (Tabela 03).

Todas as trinta e quatro propriedades estudadas foram visitadas com o objetivo de caracterização clínica e epidemiológica da enfermidade. Em vinte e cinco propriedades também foram coletadas amostras, de animais e ordenhadores, para a realização de diagnóstico laboratorial.

Tabela 03: Total de propriedades visitadas por município

Município	Total de propriedades	Propriedades com coleta de material
Valença	13	9
Barra do Pirai	6	4
Rio das Flores	3	1
Pirai	3	3
Rio Claro	3	3
Resende	6	5

Os dados referentes às propriedades, como endereço, proprietário, características do manejo e demais dados relevantes para o estudo clínico-epidemiológico, foram registradas no questionário de investigação abaixo, aplicado em cada uma das propriedades visitadas.

Questionário Epidemiológico aplicado nas propriedades visitadas.

Propriedade: _____ Proprietário: _____
Endereço: _____
Município: _____ Distrito: _____ UF: _____

Data do início da doença: _____

Data do Último caso: _____

Comprou animais a quanto tempo?

De onde? _____

Envio de leite para onde?

Quem é o motorista do caminhão?

Admissão de funcionários novos para trabalhar com o gado (ordenhadores)?

Sim Não Quando: _____

Nº de Animais: ____ Raça: _____

Bezerros até 04 meses: __ (Doentes: ____)

Novilhas: _____ (Doentes: _____)

Garrotes: _____ (Doentes: _____)

Vacas em lactação: __ (Doentes: ____)

Secas: _____ (Doentes: _____)

Touro: _____ (Doentes: _____)

Assistência veterinária?

Sim Não

Local das Lesões:

tetas úbere

membros boca/focinho

olhos vulva/períneo

causou mastite em algum animal?

Tratou com o que?

Evolução: _____

Queda na produção de leite

Sim Não

Quanto %: _____

Outros Sinais apresentados:

MANEJO DE ORDENHA:

manual mecânica

PRESEÇA DE ROEDORES

Sim Não

Cuidados na Ordenha:

lavagem das mãos antes da ordenha

lavagem das tetas

secagem das tetas

uso de iodo antes da ordenha

uso de iodo depois da ordenha

PESSOAS ACOMETIDAS:

Nº de pessoas doentes: _____

Sexo: homem mulher

Idade: _____

Ocupação: _____

Local das lesões:

mão

dedos

tronco

pernas

nádegas

braço

face

órgãos genitais

Sintomas:

dor local inchaço

sudorese náusea/vômito

dor de cabeça íngua

cansaço febre

Duração: _____

Assistência Médica?

Sim Não

DATA: _____

ASSINATURA: _____

3.4 Dados Clínicos e Características Epidemiológicas

As descrições das alterações clínicas, localização das lesões e evolução da doença, tanto em humanos quanto em animais, além das informações necessárias para estabelecimento das características epidemiológicas da enfermidade em questão, prejuízos econômicos e transmissão da doença, também foram registradas no questionário epidemiológico aplicado em cada propriedade estudada.

3.5 Coleta das Amostras para Diagnóstico Laboratorial

As amostras para identificação laboratorial, foram colhidas de lesões cutâneas de vacas em fase de lactação e de bezerros lactentes, durante as visitas às propriedades rurais com notificação de casos de poxvirose. As amostras de humanos, soro sanguíneo e líquido vesicular, foram coletadas em postos de saúde da rede municipal de cada município.

3.5.1 Sangue

Amostras de soro sanguíneo foram colhidas de vacas e de bezerros lactentes em fase inicial da doença (com mínimo de seis dias de evolução) e de animais convalescentes, entre um e seis meses após o desaparecimento das lesões. O total de noventa amostras de soro bovino e quatorze amostras de soro humanos foram encaminhadas para diagnóstico.

O sangue dos animais foi colhido através de punção venosa em veia mamária ou veia jugular com utilização de sistema de coleta de sangue a vácuo. Durante a coleta o animal foi contido através de cordas (vacas em lactação) ou manualmente (bezerros lactentes). A retirada do sangue foi realizada sem sofrimento ou reação dolorosa. Após a retração do coágulo, aproximadamente dois mililitros de soro foram obtidos, separados, identificados e armazenados a menos 18° C para serem enviados ao Laboratório de Hantavíroses do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), e submetidos à sorologia para obtenção da titulação dos anticorpos circulantes.

As amostras de sangue de humanos foram coletadas em postos de saúde, a partir da solicitação do profissional da área de saúde que atendeu o caso, através de procedimento padrão, utilizando seringas de cinco mililitros e agulhas de punção 25 X 7 mm. Os soros sanguíneos obtidos foram identificados e estocados a menos 18° C e, assim como as amostras dos animais, encaminhados ao IOC para titulação de anticorpos.

3.5.2 Crostas e líquido vesicular

Para a identificação viral do agente, foram coletadas vinte e cinco amostras de crostas e uma amostra de líquido vesicular de lesões em animais, uma amostra de líquido vesicular e uma amostra de crosta de ferida de humanos. As crostas foram retiradas com auxílio de uma pinça anatômica e armazenadas em frascos estéreis, identificadas e armazenadas congeladas a menos 18° C. O líquido vesicular obtido de animais na fase inicial da enfermidade, foi retirado por punção local com utilização de seringas de cinco ml com agulha calibre 25x7 e armazenado em frascos estéreis, identificadas, congelados a menos 18° C para análise. Tanto o líquido das vesículas quanto as crostas congeladas foram encaminhadas ao Laboratório de Hantavíroses do IOC, FIOCRUZ para serem submetidos ao isolamento viral, microscopia eletrônica e identificação do genoma viral através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).

3.4 Isolamento Viral

O isolamento do vírus foi feito a partir de dezenove amostras de crostas de animais (tetas de vacas e da região do focinho de bezerros) e em uma amostra de líquido vesicular e uma amostra de crosta de humanos enfermos (do mesmo paciente que, na ocasião da visita ao posto de saúde, se encontrava na fase inicial das lesões).

Cada amostra de crosta foi macerada em Solução Salina Tamponada (PBS) a 0,01 M e pH de 7,2, acrescida de gentamicina (100 mg/L), anfotericina B (5mg/L) e penicilina potássica ou sódica (400.000 U/L). A suspensão obtida foi coletada, centrifugada por 5 minutos em microcentrífuga EPPENDORF, para posterior retirada do sobrenadante e armazenamento em freezer a -70°C , até a realização do Isolamento viral. O congelamento foi feito em meio de Manutenção Eagle Earle.

O macerado das crostas ou o líquido vesicular foram inoculados em cultura de tecidos de Células Vero, linhagem sensível ao vírus, que se replicam nas células e depois de três a cinco dias, induz à destruição celular (efeito de destruição celular), o que ocorre de 3 a 5 dias após a replicação viral nas camadas de células.

3.5 Microscopia Eletrônica

A observação através da Microscopia Eletrônica foi realizada em cinco amostras de crostas de bovinos e em uma amostra de líquido vesicular de humano, com o objetivo de identificar morfológicamente os vírus como sendo pertencentes ao gênero Orthopoxvírus.

As crostas foram maceradas e suspensas em pequeno volume de água destilada e realizada a constração negativa com ácido fosfotúngstico a 1% (Brenner & Horne 1959) para posterior observação e identificação morfológica das partículas virais típicas de Orthopoxvírus, no Microscópio Eletrônico de transmissão¹. A amostra de líquido vesicular foi observada diretamente, sem maceração ou adição de água destilada.

3.6 Sorologia

Noventa amostras de soro sangüíneo de bovinos e quatorze amostras de humanos foram coletadas para titulação de anticorpos através do teste de Soroneutralização.

As amostras foram inativadas e diluídas de 1/10 (um para dez) até diluições de 1/1280 (um para mil duzentos e oitenta) e incubadas em uma micro-placa de cultura celular, contendo de trinta a sessenta unidades formadoras de placa, por 1 hora, a 37°C , com 50 μl (microlitros) de diluição de vírus amostra Cantagalo (Cantagalo vírus/IOC), isolado no norte do Estado e demonstrado, por biologia molecular, como idêntico ao Vaccinia vírus

Após a incubação foram acrescentados 100 μl de uma suspensão de células Vero em meio de cultura com 5% de soro fetal bovino, fez-se a reincubação a 37°C por 48 horas, e as células foram coradas com cristal violeta a 1 % e formol a 20 % em água destilada por 30 minutos. O líquido da placa foi retirado e seco na estufa a 37°C até a contagem das placas formadas ao microscópio, para a obtenção do título do soro.

O título de cada soro foi obtido a partir da maior diluição onde houve redução de 50% do número de placas de lise com relação às placas produzidas no controle de vírus. Os soros com

¹ ME Zeiss EM – 900

capacidade de neutralização da suspensão de vírus nas diluições menores do que 1/10, foram considerados negativos e títulos iguais ou maiores que 1/10, positivos.

3.7 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

Foram submetidas ao PCR, dezenove amostras de crostas e duas amostras de líquido vesicular de bovinos, uma amostra de crosta e uma de líquido vesicular de humanos.

3.7.1 Procedimentos para extração do DNA viral

As amostras de líquido vesicular foram processadas utilizando o protocolo do Kit comercial *QIAamp™ DNA Mini Kit* (QIAGEN) e as amostras de crostas foram extraídas utilizando-se o reagente *Trizol™ Reagent* (Invitrogen) seguindo as orientações dos fabricantes para a extração do DNA. Os procedimentos de extração de DNA viral foram testados com um controle positivo que apresentou resultado reativo para Poxvírus em todos os testes.

3.7.2 Amplificação para o gene da hemaglutinina (HA) dos Poxvírus

O protocolo de PCR utilizado para detectar a presença do genoma dos Poxvírus nas amostras analisadas foi realizado utilizando-se o par de primer HAOUTR e HAOUTF (DAMASO et al., 2000). Para a reação se utilizou *kit comercial Master Mix* (Promega Corporation), segundo as instruções do fabricante.

Além dos primers externos descritos, um segundo par de primers internos, HAINTE F e HAINTE R foi utilizado (DAMASO et al., 2000). Este segundo par de primers amplifica um segmento interno de aproximadamente 200 bp do fragmento amplificado com os primers externos de aproximadamente 1171 bp do gene HA dos Poxvírus.

Foram incluídos controles negativos e controle positivo (DNA da cepa do Vaccinia vírus).

3.7.3 Sequenciamento cíclico

Após a amplificação, o material foi submetido a uma corrida eletroforética em agarose 1,5%. Confirmada a presença de fragmento de aproximadamente 1200 bp, todo o volume do amplificado foi submetido à uma nova corrida em agarose 1% para eluição do DNA amplificado usando o *Kit de eluição de DNA em gel Concert Gel Extraction Systems – Rapid Gel Extraction Protocol* (Gibco BRL). Após a eluição do amplificado, o material genômico foi quantificado utilizando *LOW DNA MASS* e assim determinada a quantidade de DNA amplificado existente na amostra. O material eluído e quantificado foi submetido à reação de sequenciamento cíclico utilizando-se o Kit Big Dye terminator V.3.1 *Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems).

4. RESULTADOS

4.1 Distribuição Geográfica da Poxvirose em Bovinos e Humanos no Estado do Rio de Janeiro

Os surtos de poxviroses bovina e humana estudados ocorreram, entre maio de 2006 a outubro de 2007, em 34 propriedades de gado de leite distribuídas em seis municípios (Valença, Barra do Pirai, Rio das Flores, Pirai, Rio Claro, e Resende) localizados na Região Sul Fluminense do Estado do Rio de Janeiro (Figura 01).

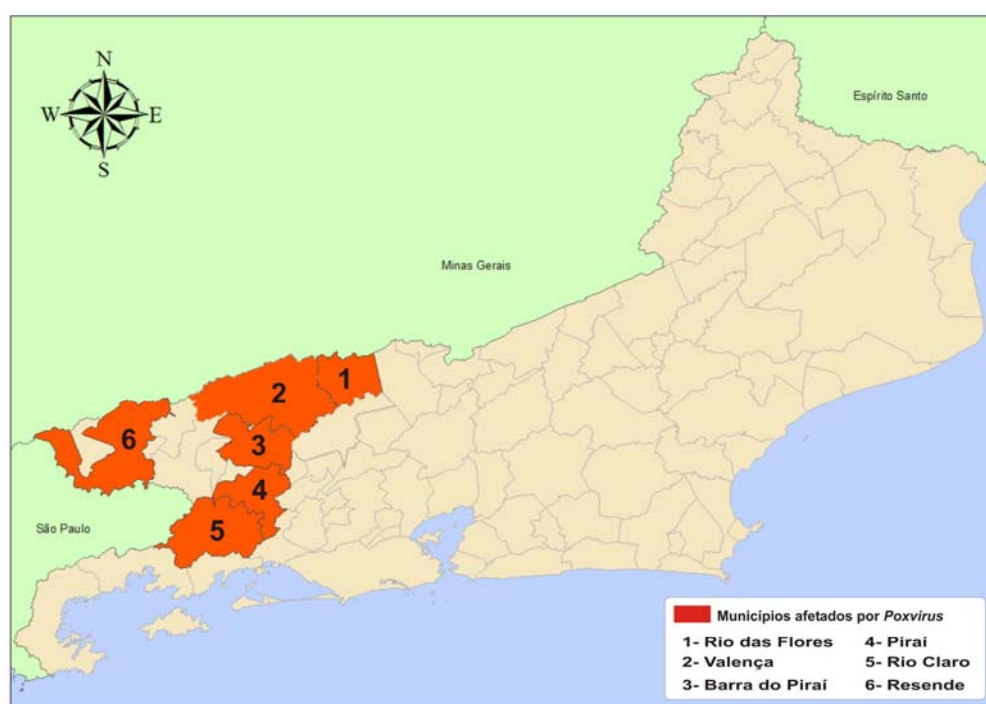


Figura 01. Localização geográfica dos municípios com casos de poxvirose bovina e humana

O maior número de casos ocorreu em Valença (35,5%) seguido dos municípios de Barra do Pirai (19,3%) e Resende (16,1%). Mais da metade das propriedades acometidas do município de Valença situava-se no distrito de Conservatória, e em duas propriedades limítrofes a este distrito em Barra do Pirai (Sítio Recreio e Sítio Branco).

Em Rio das Flores, Pirai e Rio Claro ocorreram casos de poxvirose em apenas três propriedades (9,7% do total de casos), em cada município.

No município de Resende, todas as propriedades estudadas estavam situadas numa pequena localidade, denominada Fumaça.

Em Pirai todos os casos de poxviroses ocorreram no distrito de Arrozal, em propriedades próximas uma das outras.

Já em Rio Claro, os casos de poxviroses bovina e humana ocorreram em propriedades distantes. No município de Rio das Flores, duas das três fazendas acometidas eram próximas.

Na tabela 04 encontram-se a localização e a distribuição das propriedades com casos de poxviroses, em cada município.

Tabela 04: Poxvirose bovina e humana no Estado do Rio de Janeiro. Identificação, localização e distribuição das propriedades estudadas, por município, no período de maio de 2006 a outubro de 2007

Município	Distrito	Propriedade
Valença	Conservatória	Sítio Santa Helena
	Conservatória	Sítio Santa Bárbara
	Conservatória	Sítio do Sertão
	Conservatória	Faz Mato Dentro
	Conservatória	Sítio São José
	Conservatória	Sítio Dois irmãos
	Conservatória	Sítio Boa Vista
	Conservatória	Faz São José
	Conservatória	Sítio da Vargem
	Valença	Sítio Furnas
	Valença	Sítio Acarapé
	Valença	Sítio Bonfim
	Parapeúna	Faz São Fernando
Rio das Flores	Rio das Flores	Sítio Santa Clara
	Rio das Flores	Faz Santa Inácia
	Rio das Flores	Sítio São Sebastião
Barra do Pirai	São José do Turvo	Sítio Branco
	Ipiabas	Sítio Recreio
	Barra do Pirai	Sítio S.Francisco
	Barra do Pirai	Sítio São Jorge
	Barra do Pirai	Faz São Thiago
	Barra do Pirai	Faz Ibitira
Pirai	Arrozal	Sítio Mangueira
	Arrozal	Sítio do Iran
	Arrozal	Sítio do Forte
Rio Claro	Rio Claro	Faz Meia Laranja
Rio Claro	Rio Claro	Faz Monte Café
Rio Claro	Rio Claro	Sítio Nossa Sra da Aparecida
Resende	Fumaça	Sítio Dois Coqueiros
	Fumaça	Sítio Cafundó
	Fumaça	Sítio da Fumaça
	Fumaça	Sítio do Juca
	Fumaça	Sítio Bela Vista
	Fumaça	Sítio M Miranda

4.2 Características Epidemiológicas da Poxvirose em Bovinos

Em todas as propriedades estudadas, apenas vacas em fase de lactação e bezerros lactentes, que mamavam diretamente nas vacas com lesão, adoeceram clinicamente. As vacas que se encontravam no período seco (que não estavam sendo ordenhadas), touros e bezerros, que eram alimentados com sistema de aleitamento em baldes, não apresentaram as lesões.

Em relação à época de ocorrência, a análise da tabela 05 e da figura 02 demonstra uma maior concentração dos casos de poxvirose durante os meses de maio a agosto. Das trinta e quatro propriedades estudadas, em apenas oito (23,5 %) a enfermidade se iniciou fora deste período.

Durante as visitas e investigação epidemiológica, alguns produtores relataram que casos semelhantes, de lesões em bovinos e humanos, já ocorreram em épocas anteriores. Em Conservatória, distrito de Valença com maior número de propriedades com a enfermidade, houve relatos de propriedades acometidas pela enfermidade no ano de 2005.

Na localidade da Fumaça, em Resende, alguns produtores e proprietários locais mencionaram a ocorrência de sintomas semelhantes a quarenta anos atrás (Sítio Dois Coqueiros), enquanto outros relataram sintomas característicos de poxvirose a cinco ou seis anos (Sítio M. Miranda).

Tabela 05: Poxvirose bovina e humana no Estado do Rio de Janeiro. Distribuição mensal e anual dos casos

Município	Distrito	Propriedade	Mês / Ano
Valença	Conservatória	Sítio Santa Helena	Maio /2006
	Conservatória	Sítio Santa Bárbara	Maio /2006
	Conservatória	Sítio do Sertão	Maio /2006
	Conservatória	Faz Mato Dentro	Julho/2006
	Conservatória	Sítio São José	Maio/2006
	Conservatória	Sítio Dois irmãos	Junho/2006
	Conservatória	Sítio Boa Vista	Maio /2006
	Conservatória	Faz São José	Julho/2006
	Conservatória	Sítio da Vargem	Maio /2006
	Valença	Sítio Furnas	Julho/2006
	Valença	Sítio Acarapé	Outubro/2006
	Valença	Sítio Bonfim	Outubro/2006
	Parapeúna	Faz São Fernando	Dezembro/2006
Rio das Flores	Rio das Flores	Sítio Santa Clara	Julho/2006
	Rio das Flores	Faz Santa Inácia	Agosto/2006
	Rio das Flores	Sítio São Sebastião	Agosto/2006
Barra do Pirai	São José do Turvo	Sítio Branco	Junho /2006
	Ipiabas	Sítio Recreio	Maio/2006
	Barra do Pirai	Sítio S Francisco	Agosto/2006
	Barra do Pirai	Sítio São Jorge	Agosto/2006
	Barra do Pirai	Faz São Thiago	Julho/2006
	Barra do Pirai	Faz Ibitira	Novembro/2006
Pirai	Arrozal	Sítio Mangueira	Maio/2007
	Arrozal	Sítio do Iran	Abril/2007
	Arrozal	Sítio do Forte	Abril/2007
Rio Claro	Rio Claro	Faz Meia Laranja	Julho/07
Rio Claro	Rio Claro	Faz Monte Café	Junho/07
Rio Claro	Rio Claro	Sítio Nossa Sra da Aparecida	Maio/07
Resende	Fumaça	Sítio Dois Coqueiros	Junho/2007
	Fumaça	Sítio Cafundó	Fevereiro/2007
	Fumaça	Sítio da Fumaça	Junho/2007
	Fumaça	Sítio do Juca	Junho/2007
	Fumaça	Sítio Bela Vista	Abril/2007
	Fumaça	Sítio do M Miranda	Janeiro/2007

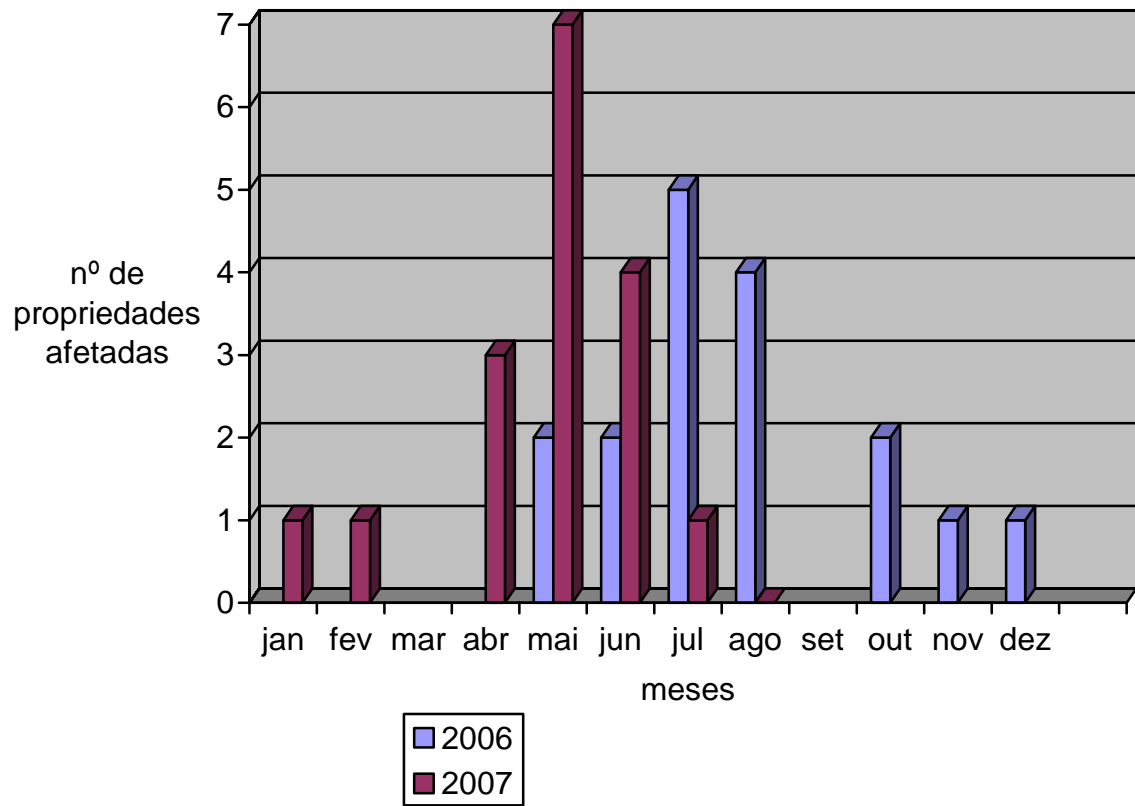


Figura: 02: Poxvirose bovina e humana no Estado do Rio de Janeiro. Distribuição mensal e anual dos casos

A taxa de ataque das vacas em lactação (número de vacas em lactação clinicamente doentes/número total de vacas em lactação x 100) foi superior ou igual a 60% em 52,3 % das propriedades estudadas. Em 32,3 % das propriedades, essa taxa variou de 30 a 60% (Tabela 06).

Nas propriedades em que o ordenhador adotou algum tipo de profilaxia (tratamento das lesões dos tetos com solução a base de iodo e/ou ordenha das vacas doentes por último) logo após o aparecimento das primeiras lesões, a taxa de ataque foi inferior a 60 %.

Em oito propriedades a doença foi mencionada em bezerros lactentes de até 6 meses, que mamavam em vacas clinicamente doentes. Nos bezerros, a taxa de ataque por propriedade, variou de 3,6% a 66,7% (Tabela 07).

Nas propriedades com sistema de aleitamento em balde, nenhum bezerro apresentou lesões, mesmo aquele que ingeria leite de vacas clinicamente afetadas.

Tabela 06: Poxvirose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Taxa de ataque das vacas em lactação nas propriedades estudadas

Município	Propriedade	Nº total de vacas em lactação	Nº de vacas em lactação clinicamente doentes	Taxa de ataque (%)
Valença	Faz São Fernando	11	05	45,5
	Sítio Santa Helena	50	50	100
	Sítio Santa Bárbara	40	30	75
	Sítio do Sertão	20	18	90
	Faz Mato Dentro	22	08	36,4
	Sítio São José	14	12	85,7
	Sítio Dois irmãos	07	05	71,4
	Sítio Boa Vista	60	10	16,7
	Faz São José	30	18	60
	Sítio da Vargem	28	25	89,3
	Sítio Bonfim	50	50	100
	Sítio Furnas	30	14	46,7
	Sítio Acarapé	20	18	90
Rio das Flores	Sítio Santa Clara	30	30	100
	Fazenda Santa Inácia	25	20	80
	Sítio São Sebastião	10	03	30
	Sítio Branco	50	38	76
	Sítio Recreio	30	25	83,3
Barra do Pirai	Sítio S. Francisco	06	05	83,3
	Sítio São Jorge	20	02	10
	Faz São Thiago	53	48	90,6
	Faz Ibitira	22	12	54,5
Pirai	Sítio Mangueira	20	03	15
	Sítio do Iran	32	12	37,5
	Sítio do Forte	06	02	33,3
Rio Claro	Faz Meia Laranja	15	12	80
	Faz Monte Café	19	05	26,3
	Sítio Nossa Sra da Aparecida	06	03	50
Resende	Sítio Dois Coqueiros	33	31	93,9
	Sítio Cafundó	18	8	44,4
	Sítio Fumaça	30	20	66,7
	Sítio do Juca	16	03	18,7
	Sítio Bela Vista	14	01	7,1
	Sítio M Miranda	09	05	55,5
TOTAL		846	551	65,1

Tabela 07: Poxvirose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Taxa de infecção nos bezerros, por propriedade

Município	Propriedade	Nº total de bezerros	Nº de bezerros clinicamente doentes	Taxa de infecção dos bezerros (%)
Valença	Sítio Santa Helena	28	01	3,6
	Sítio Santa Bárbara	20	10	50
	Sítio da Vargem	15	03	20
Barra do Pirai	Sítio Recreio	15	02	13,3
	Sítio S. Francisco	6	1	16,7
	Faz São Thiago	30	20	66,7
Resende	Sítio do M Miranda	07	01	14,3
Pirai	Sítio do Forte	07	01	14,3
TOTAL		128	39	49, 92%

No que se refere ao manejo adotado, em apenas duas propriedades realizava-se a ordenha mecânica. Porém, mesmo nessas propriedades nenhuma prática de higienização das tetas ou da ordenhadeira entre uma ordenha e outra era feita. A taxa de ataque nas vacas em lactação nessas duas propriedades foi superior a 75%. Todas as outras propriedades utilizavam o sistema tradicional de ordenha manual.

As práticas de higienização antes e após a ordenha não eram realizadas em 50% das propriedades estudadas. Estas apresentaram, em sua grande maioria, taxa de ataque de vacas em lactação superior a 75%.

Apenas três propriedades faziam um manejo completo de higiene na ordenha, com lavagem das mãos do ordenhador, lavagem e secagem dos tetos das vacas antes da ordenha e utilização de solução a base de iodo, antes e após a ordenha.

Em todas as propriedades visitadas foi relatada uma queda na produção de leite durante a evolução clínica da enfermidade. De acordo com informações dos proprietários e ordenhadores, esta queda variou entre 30 a 60% da produção leiteira, com retorno da produção normal após a remissão dos sintomas e lesões, o que ocorria em torno de duas semanas.

A tabela 08 e a figura 03 demonstram a correlação existente entre o manejo adotado durante a ordenha e a taxa de ataque das vacas em lactação.

A admissão de novos funcionários (ordenhadores) vindos de propriedades em que houve a doença, ou a visita de funcionários locais à outra propriedade com animais infectados, ocorreu em apenas quatro das fazendas estudadas.

A compra ou entrada recente de animais, aproximadamente 20 a 30 dias antes do aparecimento das primeiras lesões nos tetos das vacas, também foi relatada em quatro propriedades.

Tabela 08: Poxvirose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Manejo na ordenha, assistência veterinária e taxa de ataque das vacas em lactação

Propriedade	Tipo de ordenha	Higiene na ordenha	Taxa de ataque (%)
Faz São Fernando	manual	C	45,4
Sítio Santa Helena	manual	A	100
Sítio Santa Bárbara	manual	A	80
Sítio do Sertão	manual	A	90%
Faz Mato Dentro	manual	A	36,4
Sítio São José	manual	D	85,7
Sítio Dois irmãos	manual	A	71,4
Sítio Boa Vista	manual	A	16,7
Faz São José	manual	D	47,4
Sítio da Vargem	mecânica	B	100
Sítio Bonfim	manual	C	100
Sítio Furnas	manual	B	46,7
Sítio Acarapé	manual	B	90
Sítio Santa Clara	manual	A	100
Fazenda Santa Inácia	manual	A	80
Sítio São Sebastião	manual	A	20
Sítio Branco	mecânica	A	76
Sítio Recreio	manual	A	71,4
Sítio S. Francisco	manual	C	83,3
Sítio São Jorge	manual	A	10
Faz São Thiago	manual	A	90,6
Faz Ibitira	manual	B	54,5
Sítio Mangueira	manual	A	15
Sítio do Iran	manual	B	37,5
Sítio do Forte	manual	C	33,3
Faz Meia Laranja	manual	B	80
Faz Monte Café	manual	C	26,3
Sítio Nossa Sra da Aparecida	manual	C	50
Sítio Dois Coqueiros	manual	A	93,9
Sítio Cafundó	manual	B	44,4
Sítio Fumaça	manual	A	66,7
Sítio do Juca	manual	C	18,7
Sítio Bela Vista	manual	D	7,1
Sítio M. Miranda	manual	A	55,5

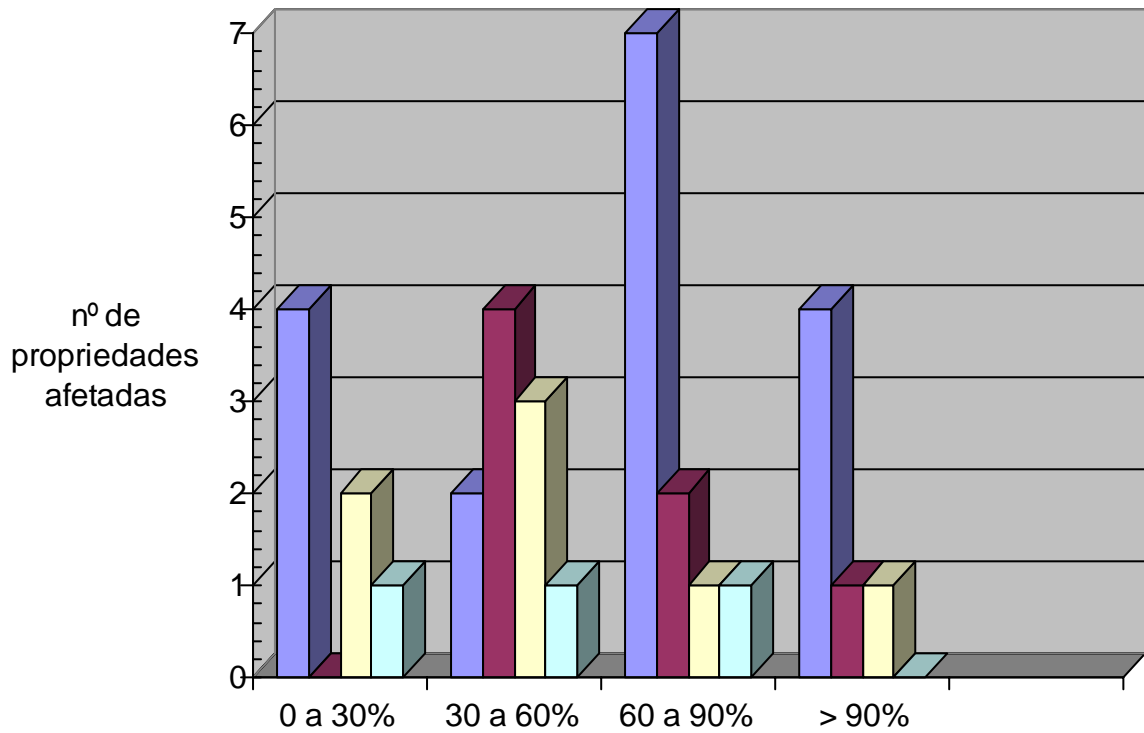
Manejo adotado na higiene da ordenha:

A= Nenhuma higiene era realizada

B= Lavagem das mãos antes da ordenha

C= Lavagem das mãos e lavagem e secagem dos tetos antes da ordenha

D= Lavagem das mãos, lavagem e secagem dos tetos antes da ordenha e uso de iodo antes e após a ordenha



Higiene na ordenha:

Taxa de ataque das vacas em lactação

- A: Nenhuma higiene
- B: Lavagem das mãos antes da ordenha
- C: Lavagem das mãos e lavagem e secagem dos tetos antes da ordenha
- D: Lavagem das mãos, lavagem e secagem dos tetos antes da ordenha e uso de iodo antes e após a ordenha

Figura: 03: Poxvírose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Manejo na ordenha e taxa de ataque das vacas em lactação

4.3 Características Epidemiológicas da Poxvirose em Humanos

Foram estudados cinquenta e quatro casos clínicos de poxvirose humana, nas mesmas propriedades rurais onde ocorreram os casos de poxvirose bovina. Todos os indivíduos afetados clinicamente exerciam trabalho pecuário, com a função principal de ordenhadores de gado leiteiro, em contato direto com as lesões dos animais. Não foi relatada ou constatada a transmissão interhumana da enfermidade. Dois produtores adquiriram a enfermidade de uma propriedade vizinha, após terem entrado em contato com vacas clinicamente doentes.

A transmissão de humanos para animais foi constatada através da investigação epidemiológica em duas propriedades (Sítio Santa Bárbara em Valença e Sítio Recreio, em Barra do Piraí) com vacas inicialmente sadias que apresentaram lesões nos tetos após terem sido ordenhadas por indivíduos clinicamente afetados, que contraíram a doença após terem entrado em contato com vacas enfermas de outras propriedades. No Sítio São Sebastião, em Rio das Flores, as vacas adquiriram lesões nos tetos alguns dias após terem sido ordenhadas por um produtor clinicamente sadio, que havia ordenhado vacas com lesões.

O número de pessoas acometidas por propriedade variou de um a cinco, todas tiveram contato direto com animais enfermos. Apenas duas eram do sexo feminino e, quanto à idade, 53,7% tinham menos de 33 anos.

Em apenas cinco das propriedades estudadas não ocorreram casos em humanos, e em duas delas, (Fazenda São Fernando, em Valença, e Sítio Fumaça, em Resende), o diagnóstico laboratorial não comprovou a presença de Orthopoxvirus. Nessas duas propriedades, as lesões eram predominantes no úbere, e não nos tetos, como nas outras propriedades estudadas.

A tabela 09 demonstra a distribuição dos casos em humanos assim como a quantidade de pessoas clinicamente afetadas por propriedade.

Tabela 09: Poxvirose bovina no Estado do Rio de Janeiro. Distribuição dos casos de poxvirose humana nas propriedades estudadas. Número de indivíduos clinicamente afetados por propriedade

Município	Propriedade	Nº de casos em humanos
Valença	Faz São Fernando	0
	Sítio Santa Helena	03
	Sítio Santa Bárbara	05
	Sítio do Sertão	02
	Faz Mato Dentro	01
	Sítio São José	01
	Sítio Dois Irmãos	01
	Sítio Boa Vista	01
	Faz São José	01
	Sítio da Vargem	02
	Sítio Bonfim	03
	Sítio Furnas	03
	Sítio Acarapé	02
Rio das Flores	Sítio Santa Clara	01
	Fazenda Santa Inácia	02
	Sítio São Sebastião	01
Barra do Pirai	Sítio Branco	02
	Sítio Recreio	01
	Sítio São Francisco de Paula	02
	Sítio São Jorge	0
	Faz São Thiago	03
	Faz Ibitira	01
Pirai	Sítio Mangueira	02
	Sítio do Iran	0
	Sítio do Forte	01
Rio Claro	Faz Meia Laranja	01
	Faz Monte Café	03
	Sítio Nossa Sra da Aparecida	0
Resende	Sítio Dois Coqueiros	03
	Sítio Cafundó	02
	Sítio Fumaça	0
	Sítio do Juca	01
	Sítio Bela Vista	01
	Sítio do Márcio Miranda	02
TOTAL		54

4.4 Quadro Clínico da Poxvirose no Gado Leiteiro

Nas poucas vezes em que foi possível acompanhar o quadro desde o início as lesões caracterizavam-se, inicialmente, por frágeis vesículas cujo tamanho variava entre 1 – 2 cm de diâmetro, repletas de líquido seroso, claro, de coloração palha. As lesões, geralmente em número variado, quase sempre acometiam mais de um teto. Em alguns casos, durante a evolução das lesões, havia ressecamento da pele que recobria a vesícula, principalmente em sua área mais central, com liberação de exsudato sero-mucoso ou purulento. A ruptura das vesículas e/ou o descolamento do tecido ressecado, provocada, na grande maioria das vezes, pela própria ordenha, deixavam lesões ulceradas, de formas e tamanhos variados que, em alguns casos, se estendiam por quase a totalidade do teto.

Na maior parte das propriedades (64,7%), as lesões nas vacas se localizavam somente nos tetos, enquanto lesões simultâneas em tetos e úberes foram observadas em 35,3% das propriedades.

Em todas as propriedades foi relatada uma grande sensibilidade dolorosa durante a ordenha dos animais em fase inicial (vesicular) das lesões.

A duração dos sintomas nas vacas variou de quinze a trinta dias, com média de três semanas.

Em sete (20,6%) das propriedades foi mencionada a ocorrência de mastite como seqüela das lesões de poxvírus e a perda total de um dos tetos de uma vaca infectada ocorreu apenas em uma propriedade.

Em bezerros, os poucos casos observados restringiam-se aos animais lactantes. As lesões se localizavam principalmente ao redor da comissura labial e ao redor do focinho, sob a forma de crostas que se desprendiam facilmente com auxílio de uma pinça e deixava no local uma lesão úmida, circular e ulcerada. Em um animal, havia também várias ulcerações na língua, o que, segundo o proprietário, impediu o animal de se alimentar durante alguns dias. Um bezerro apresentou lesões na gengiva.

As figuras 04 a 27 ilustram as lesões características de poxvirose encontradas em bovinos, em algumas das propriedades estudadas.



Figura 04: Vesícula única, repleta de líquido, na teta de uma vaca em fase inicial de infecção. Sítio São Sebastião. Rio das Flores.



Figura 05: Vesícula em vias de romper. Fazenda Mato Dentro. Ipiabas, Barra do Piráí.



Figura 06: Múltiplas vesículas em vias de romper, na extremidade de uma teta. Fazenda Mato Dentro. Ipiabas, Barra do Piráí.



Figura 07: Vesícula rompida na teta de uma vaca. Desprendimento do tecido ressecado deixando uma lesão ulcerada. Sítio do Forte. Arrozal, Piráí.



Figura 08: Lesão ulcerada, após o rompimento de vesículas. Sítio do Forte. Arrozal, Pirai.



Figura 09: Lesões ulceradas na teta de uma vaca, aproximadamente duas semanas de evolução. Sítio Furnas. Valença.



Figura 10: Desprendimento do tecido ressecado, na teta de uma vaca. Sítio Dois Coqueiros. Fumaça, Resende.



Figura 11: Mesma teta da figura 10, após retirada mecânica do tecido ressecado que recobria a lesão. Sítio Dois Coqueiros. Fumaça, Resende.



Figura 12: Lesões ulceradas extensas, com aproximadamente duas semanas de evolução, resultado da confluência de várias vesículas rompidas. Fazenda São Thiago. Barra do Pirai.



Figura 13: Lesão ulcerada extensa com início de formação de crosta. Sítio do Iran. Arrozal, Pirai.



Figura 14: Lesões ulceradas extensas, recobertas por crostas. Fazenda Ibitira. Barra do Piráí.



Figura 15: Lesão recoberta por crostas. Sítio do Iran. Arrozal, Piráí.



Figura 16: Lesão recoberta por crosta, na extremidade de uma teta. Sítio Mangueira. Arrozal, Pirai.



Figura 17: Lesão única, com formação de crosta. Sítio Mangueira. Arrozal, Pirai.



Figura 18: Várias lesões em fase inicial de cicatrização. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.

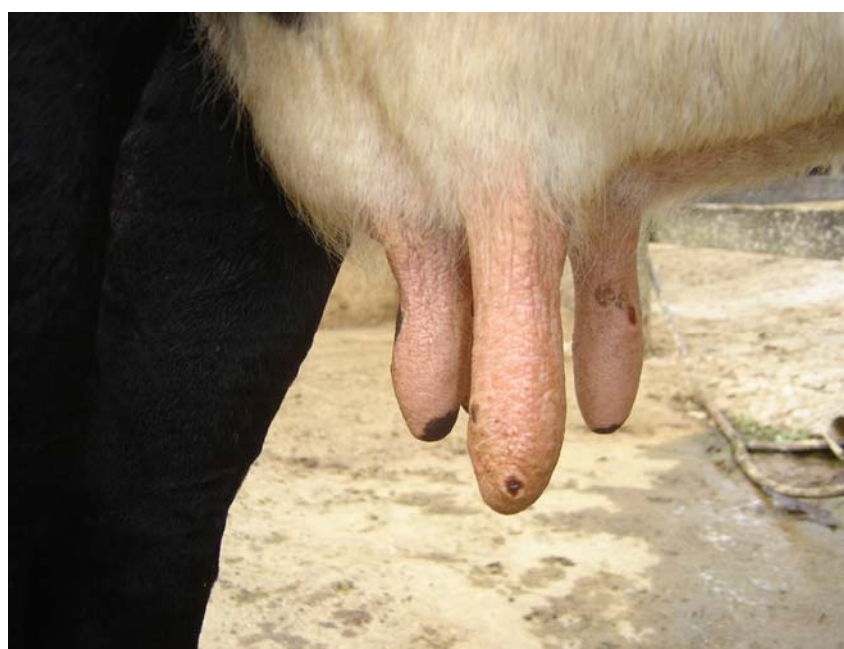


Figura 19: Lesão em fase de cicatrização. Sítio Santa Bárbara. Conservatória, Valença.



Figura 20: Lesões em regressão (em fase de cicatrização). Sítio do Forte. Arrozal, Pirai.



Figura 21: Múltiplas lesões com crostas distribuídas simultaneamente nas tetas e úbere de uma vaca. Sítio Fumaça. Resende.



Figura 22: Lesão na língua de um bezerro lactente. Sítio do Forte. Arrozal, Pirai.



Figura 23: Lesão na região labial lateral de um bezerro lactente. Sítio do Forte. Arrozal, Pirai.



Figura 24: Lesão na região do focinho de um bezerro lactente. Sítio Fumaça. Fumaça, Resende.



Figura 25: Lesão ulcerada na região do focinho, próximo à mucosa nasal de um bezerro lactente. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.



Figura 26: Lesão crostosa logo acima da região do focinho de um bezerro lactente. Fazenda São Thiago. Barra do Pirai.

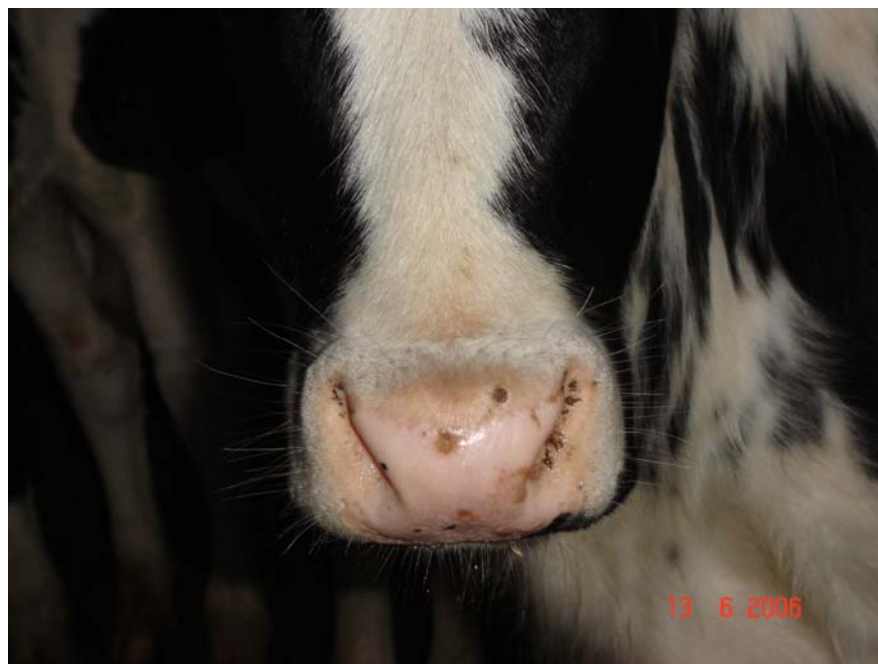


Figura 27: Lesão crostosa na região do focinho de um bezerro lactente. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.

4.5 - Quadro Clínico da Poxvirose em Humanos

Em humanos, as lesões vesiculares evoluíam para pústulas, que ao rompimento, deixavam grandes áreas ulceradas e posteriormente eram recobertas por crostas até a cicatrização completa. Em 83,3% dos pacientes, as lesões encontravam-se apenas nos dedos e mãos. Lesões na face foram relatadas em sete pacientes. Quatro pacientes apresentaram lesões nos braços e um deles relatou também a presença de uma ferida na região abdominal. Apenas um indivíduo relatou ter tido lesões generalizadas, nas mãos, braços, pernas, troncos e pescoço, porém, na propriedade os exames laboratoriais das vacas acometidas, não diagnosticou a presença de Orthopoxvirus.

Clinicamente, verificaram ainda outras alterações. Em 97,3% dos pacientes foi relatada a ocorrência de febre e aumento de volume dos linfonodos da região axilar (linfadenopatia axilar). A maioria das pessoas afetadas queixava-se de dor local, cansaço, cefaléia e sudorese.

O período de incubação oscilou entre cinco a sete dias, com base no tempo decorrido entre o aparecimento das lesões no gado e o aparecimento dos primeiros sintomas nos ordenhadores, após o contato. A evolução clínica, ou duração dos sintomas clínicos nos indivíduos afetados, na maioria dos casos, variou de uma a duas semanas. A dor local pelas lesões nas mãos e a indisposição física nos pacientes não permitiram que os mesmos continuassem exercendo suas funções. Em apenas duas propriedades foi mencionada a permanência dos ordenhadores nas atividades por eles exercidas.

As figuras 28 a 41 ilustram as características das lesões em humanos.



Figura 28: Vesícula íntegra na extremidade do dedo de um ordenhador. Sítio do sertão. Conservatória, Valença.



Figura 29: Vesícula única no dedo de um ordenhador. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.



Figura 30: Mesmo ordenhador da figura 29, com lesão vesicular na palma da mão. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.



Figura 31: Vesícula rompida no dedo de ordenhador. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.



Figura 32: Vesícula extensa, após a punção para coleta de líquido vesicular. Pirai.



Figura 33: Lesões ulceradas extensas nas mãos da esposa de um ordenhador que ajudava na ordenha. Fazenda São Thiago. Barra do Pirai.



Figura 34: Lesão ulcerada no dedo de um ordenhador e no teto de uma vaca. Sítio Dois Coqueiros. Fumaça, Resende.



Figura 35: Lesões ulceradas na mão de um ordenhador. Sítio Furnas. Valença.



Figura 36: Vesícula rompida nos dedos e mãos de um ordenhador. Sítio Santa Bárbara, Valença.



Figura 37: Lesões em dedo e mão de um ordenhador. Sítio Furnas. Valença.



Figura 38: Lesão em fase de cicatrização, no dedo de um ordenhador. Pirai.



Figura 39: Lesões em fase de cicatrização, na mão e pulso de um ordenhador Sítio Cafundó. Fumaça, Resende.



Figura 40: Lesões crostosas, na face de um ordenhador. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.



Figura 41: Vesículas rompidas na face de um ordenhador. Sítio do Sertão. Conservatória, Valença.

4.6 Resultados Laboratoriais

Os resultados laboratoriais dos testes de soroneutralização realizados nas amostras de soro sanguíneo coletadas de bovinos e humanos com e sem sinais característicos de poxvirose, assim como os resultados do isolamento viral, microscopia eletrônica e PCR, realizados em crosta e líquido vesicular de bovinos e humanos com lesões, estão apresentados na **Tabela 10**. Na **Tabela 11**, os resultados estão separados por município, localidade, propriedade estudada, tipo de material coletado, natureza do material, data dos sintomas e data da coleta.

4.6.1 Soroneutralização para Orthopoxvirus

Os soros sanguíneos analisados foram classificados como positivos quando apresentaram capacidade de neutralização da suspensão de vírus nas diluições maiores que 1/10, e negativos quando apresentaram capacidade de neutralização da suspensão de vírus nas diluições iguais ou menores que 1/10.

Das oitenta e nove amostras de soro bovino testadas, sessenta e cinco apresentaram resultados positivos e vinte e quatro resultados negativos. Os resultados positivos foram obtidos principalmente de bovinos que apresentavam lesões características, na fase inicial (com três a sete dias de evolução) ou após a cicatrização (após três semanas de evolução). Em sete amostras de animais sem lesões, porém que pertenciam ao rebanho acometido, os resultados da sorologia também foram positivos. Resultados negativos em animais com lesões características ocorreram em dezenove amostras.

A soroneutralização nas quatorze amostras de soro, identificou cinco amostras positivas referentes a humanos que apresentaram lesões e sintomas suspeitos de infecção causada por poxvírus e uma amostra positiva em indivíduos sem lesões ou sinais sistêmicos. Das oito amostras negativas, cinco eram de humanos com lesões e sintomas e três de indivíduos saudáveis, sem sinais de infecção.

4.6.2 Isolamento viral

As crostas e líquidos vesiculares coletados no estudo, dezenove de bovinos e duas (uma de crosta e uma de líquido, do mesmo paciente) de lesões em humanos, foram inoculadas em cultura de tecidos e os resultados obtidos foram classificados como positivos ou negativos, de acordo com o efeito citopático obtido.

Não houve isolamento de vírus de uma amostra de crosta humana, porém o isolamento das amostras de líquido vesicular do mesmo paciente foi positiva e confirmou a presença do vírus. Das dezenove amostras de bovinos, dez apresentaram resultados positivos.

4.6.3 Microscopia eletrônica

A identificação da morfologia viral através da presença de partículas de Orthopoxvirus observadas através da microscopia eletrônica foi realizada em cinco amostras de bovinos, todas com resultado positivo, e em uma amostra de líquido vesicular humano, também positiva.

4.6.4 Reação em cadeia de polimerase (PCR)

Foram submetidas a PCR, dezenove amostras de crostas e duas amostras de líquido vesicular de bovinos, uma amostra de crosta e uma de líquido vesicular de um ordenhador.

As amostras humanas foram todas positivas. Todas as amostras de líquido vesicular de bovinos foram positivas e apenas quatro amostras de crosta resultaram negativas.

As amostras consideradas positivas apresentaram identidade com a amostra Cantagalo vírus, utilizada como controle.

Tabela 10: Resultados laboratoriais das amostras de bovinos e humano (continua)

Município	Registro	Natureza do material	Exame	Resultado
Valença	605	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Valença	606	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Valença	678	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Valença	679	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Valença	687	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Valença	581	vaca em lactação	SN	1 para 40
Valença	582	vaca em lactação	SN	1 para 20
Valença	583	vaca em lactação	SN	1 para 80
Valença	584	vaca em lactação	SN	1 para 80
Valença	585	vaca em lactação	SN	1 para 80
Valença	586	vaca em lactação	SN	1 para 80
Valença	587	vaca em lactação	SN	1 para 10
Valença	588	vaca em lactação	SN	1 para 40
Valença	589	vaca em lactação	SN	1 para 40
Valença	590	bezerro	SN	1 para 80
Valença	591	vaca em lactação	SN	1 para 20
Valença	683	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Valença	684	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Valença	685	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Valença	686	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Valença	601	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Valença	602	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Valença	603	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Valença	604	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Valença	680	vaca em lactação	SN	1 para 80
Valença	681	vaca em lactação	SN	1 para 40
Valença	682	vaca em lactação	SN	1 para 10
Valença	688	vaca em lactação	SN	1 para 80
Valença	689	vaca em lactação	SN	1 para 80
Valença	690	vaca em lactação	SN	>80
Valença	691	vaca em lactação	SN	>80
Barra do Pirai	592	vaca em lactação	SN	1 para 10
Barra do Pirai	593	vaca em lactação	SN	1 para 20
Barra do Pirai	594	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Barra do Pirai	595	vaca em lactação	SN	1 para 20
Barra do Pirai	596	vaca em lactação	SN	1 para 10
Barra do Pirai	672	vaca em lactação	SN	1 para 20
Barra do Pirai	673	vaca em lactação	SN	> 80
Barra do Pirai	674	vaca em lactação	SN	1 para 20

Tabela 10: Resultados laboratoriais das amostras de bovinos e humano (Continuação)

Município	Registro	Natureza do material	Exame	Resultado
Barra do Pirai	675	vaca em lactação	SN	> 80
Barra do Pirai	676	vaca em lactação	SN	> 80
Barra do Pirai	597	vaca em lactação	SN	1 para 80
Barra do Pirai	598	vaca em lactação	SN	> 80
Barra do Pirai	664	vaca em lactação	SN	> 80
Barra do Pirai	665	vaca em lactação	SN	> 80
Barra do Pirai	666	vaca em lactação	SN	> 80
Barra do Pirai	667	vaca em lactação	SN	1 para 80
Barra do Pirai	668	vaca em lactação	SN	> 80
Rio das Flores	599	vaca em lactação	SN	> 80
Rio das Flores	600	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Pirai	712	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Pirai	713	vaca em lactação	SN	1 para 80
Pirai	714	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Pirai	715	vaca em lactação	SN	1 para 80
Pirai	716	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Pirai	717	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Pirai	718	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Pirai	719	vaca em lactação	SN	> 1 para 80
Pirai	720	vaca em lactação	SN	1 para 40
Pirai	721	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Pirai	722	vaca em lactação	SN	1 para 160
Pirai	723	Bezerro	SN	1 para 40
Rio Claro	876	vaca em lactação	SN	1 para 80
Rio Claro	877	vaca em lactação	SN	1 para 80
Rio Claro	878	vaca em lactação	SN	1 para 160
Resende	832	vaca em lactação	SN	1 para 80
Resende	833	vaca em lactação	SN	1 para 80
Resende	834	vaca em lactação	SN	1 para 160
Resende	835	vaca em lactação	SN	1 para 80
Resende	836	vaca em lactação	SN	1 para 40
Resende	837	vaca em lactação	SN	1 para 160
Resende	838	vaca em lactação	SN	1 para 160
Resende	839	vaca em lactação	SN	1 para 80
Resende	840	vaca em lactação	SN	1 para 80
Resende	846	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Resende	847	vaca em lactação	SN	1 para 20
Resende	848	vaca em lactação	SN	1 para 20
Resende	849	vaca em lactação	SN	< 1 para 10

Tabela 10: Resultados laboratoriais das amostras de bovinos e humano (Continuação)

Município	Registro	Natureza do material	Exame	Resultado
Resende	841	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Resende	842	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Resende	843	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Resende	856	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Resende	857	bezerro	SN	< 1 para 10
Resende	858	vaca em lactação	SN	< 1 para 10
Resende	851	vaca em lactação	SN	1 para 20
Resende	852	vaca em lactação	SN	1 para 80
Resende	853	vaca em lactação	SN	1 para 80
Resende	854	vaca em lactação	SN	1 para 20
Resende	855	vaca em lactação	SN	1 para 40
Piraí	703	humano	SN	1 para 10
Piraí	705	humano	SN	1 para 10
Piraí	807	humano	SN	1 para 40
Piraí	704	humano	SN	< 1 para 10
Piraí	806	humano	SN	1 para 40
Rio Claro	874	humano	SN	< 1 para 10
Rio Claro	871	humano	SN	< 1 para 10
Rio Claro	872	humano	SN	1 para 160
Rio Claro	875	humano	SN	< 1 para 10
Rio Claro	873	humano	SN	< 1 para 10
Resende	859	humano	SN	1 para 80
Resende	860	humano	SN	1 para 160
Resende	861	humano	SN	1 para 160
Resende	862	Humano	SN	< 1 para 10
Valença	677	vaca em lactação	IV	negativo
Valença	618	Bezerro	IV	positivo
Valença	619	vaca em lactação	IV	positivo
Valença	620	vaca em lactação	IV	negativo
Valença	621	vaca em lactação	IV	positivo
Valença	607	vaca em lactação	IV	negativo
Valença	610	vaca em lactação	IV	positivo
Valença	611	vaca em lactação	IV	positivo
Valença	615	vaca em lactação	IV	negativo
Valença	616	vaca em lactação	IV	negativo
Valença	617	vaca em lactação	IV	positivo
Valença	614	Bezerro	IV	negativo
Barra do Piraí	611	vaca em lactação	IV	positivo

Tabela 10: Resultados laboratoriais das amostras de bovinos e humano (Continuação)

Município	Registro	Natureza do material	Exame	Resultado
Barra do Pirai	669	vaca em lactação	IV	positivo
Barra do Pirai	670	vaca em lactação	IV	negativo
Barra do Pirai	671	vaca em lactação	IV	positivo
Pirai	711	vaca em lactação	IV	positivo
Resende	844	vaca em lactação	IV	negativo
Resende	845	vaca em lactação	IV	negativo
Pirai	706	Humano	IV	positivo
Pirai	710	Humano	IV	negativo
Valença	677	vaca em lactação	PCR	negativo
Valença	618	vaca em lactação	PCR	positivo
Valença	619	vaca em lactação	PCR	positivo
Valença	620	vaca em lactação	PCR	negativo
Valença	621	vaca em lactação	PCR	positivo
Valença	607	vaca em lactação	PCR	positivo
Valença	610	vaca em lactação	PCR	positivo
Valença	611	vaca em lactação	PCR	positivo
Valença	612	vaca em lactação	PCR	positivo
Valença	622	vaca em lactação	PCR	positivo
Valença	615	vaca em lactação	PCR	negativo
Valença	616	vaca em lactação	PCR	negativo
Valença	617	vaca em lactação	PCR	positivo
Valença	614	vaca em lactação	PCR	positivo
Barra do Pirai	611	vaca em lactação	PCR	positivo
Barra do Pirai	669	vaca em lactação	PCR	positivo
Barra do Pirai	670	vaca em lactação	PCR	positivo
Barra do Pirai	671	vaca em lactação	PCR	positivo
Rio das Flores	623	vaca em lactação	PCR	positivo
Pirai	711	vaca em lactação	PCR	positivo
Resende	845	vaca em lactação	PCR	positivo
Pirai	706	humano	PCR	positivo
Pirai	710	humano	PCR	positivo
Valença	618	bezerro	ME	positivo
Valença	619	vaca em lactação	ME	positivo
Valença	610	vaca em lactação	ME	positivo
Valença	611	vaca em lactação	ME	positivo
Barra do Pirai	611	vaca em lactação	ME	positivo
Pirai	706	humano	ME	positivo

Soroneutralização; ME: microscopia eletrônica; IV: isolamento viral. PCR: reação em cadeia de polimerase.

Tabela 11: Resultado laboratorial (continua)

Município	Propriedade	Localidade	Protocolo	Material	Natureza do material	Data dos Sinais	Data da Coleta	Exame	Resultado			
Valença	Faz São Fernando	Parapeúna	677	crosta	vaca em lactação	01 de dez de 2006.	22 de dez de 06	IV	negativo			
			677	crosta	vaca em lactação	01 de dez de 2006.	22 de dez de 06	PCR	negativo			
Valença	Sítio Santa Bárbara	Conservatória	605	soro	vaca em lactação	01 de jun de 2006	13 de jun de 2006	SN	> 1 para 80			
			606	soro	vaca em lactação	01 de jun de 2006	13 de jun de 2006	SN	> 1 para 80			
			618	crosta	bezerro	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	PCR	positivo			
			618	crosta	bezerro	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	IV	positivo			
			618	crosta	bezerro	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	ME	positivo			
			619	crosta	vaca em lactação	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	PCR	positivo			
			619	crosta	vaca em lactação	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	IV	positivo			
			619	crosta	vaca em lactação	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	ME	positivo			
			620	crosta	vaca em lactação	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	PCR	negativo			
			620	crosta	vaca em lactação	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	IV	negativo			
			621	crosta	vaca em lactação	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	PCR	positivo			
			621	crosta	vaca em lactação	01 de jun de 2006	06 de jun de 2006	IV	positivo			
			Valença	Sítio do Sertão	Conservatória	678	soro	vaca em lactação	31 de mai de 2006	13 de jun de 2006	SN	> 1 para 80
679	soro	vaca em lactação				30 de mai de 2006	13 de jun de 2006	SN	> 1 para 80			
687	soro	vaca em lactação				05 de jun de 2006	13 de jun de 2006	SN	> 1 para 80			
607=679	crosta	vaca em lactação				30 de mai de 2006	06 de jun de 2006	PCR	positivo			
607	crosta	vaca em lactação				30 de mai de 2006	06 de jun de 2006	IV	negativo			
610=687	crosta	vaca em lactação				05 de jun de 2006	06 de jun de 2006	IV	positivo			
610	crosta	vaca em lactação				05 de jun de 2006	06 de jun de 2006	PCR	positivo			
610	crosta	vaca em lactação				05 de jun de 2006	06 de jun de 2006	ME	positivo			
Valença	Faz Mato Dentro	Conservatória				581	soro	vaca em lactação	11 de set de 2006	11 de out de 2006	SN	1 para 40
						582	soro	vaca em lactação	11 de set de 2006	11 de out de 2006	SN	1 para 20

Tabela 11. Continuação

Município	Propriedade	Localidade	Protocolo	Material	Natureza do material	Data dos Sinais	Data da Coleta	Exame	Resultado
Valença	Sítio da Vargem	Conservatória	584	soro	vaca em lactação	11 de set de 2006	11 de out de 2006	SN	1 para 80
			585	soro	vaca em lactação	11 de set de 2006	11 de out de 2006	SN	1 para 80
			611	crosta	vaca em lactação	15 de set de 2006	11 de out de 2006	PCR	positivo
			611	crosta	vaca em lactação	15 de set de 2006	11 de out de 2006	IV	positivo
			611	crosta	vaca em lactação	15 de set de 2006	11 de out de 2006	ME	positivo
			612	crosta	vaca em lactação	15 de set de 2006	11 de out de 2006	PCR	positivo
			622	líquido vesicular	vaca em lactação	15 de set de 2006	11 de out de 2006	PCR	positivo
			586	soro	vaca em lactação	10 de 05 de 06	11 de out de 2006	SN	1 para 80
587	soro	vaca em lactação	07 de 05 de 06	11 de out de 2006	SN	1 para 10			
588	soro	vaca em lactação	07 de 05 de 06	11 de out de 2006	SN	1 para 40			
589	soro	vaca em lactação	10 de 05 de 06	11 de out de 2006	SN	1 para 40			
590	soro	bezerro	10 de 05 de 06	11 de out de 2006	SN	1 pra 80			
591	soro	vaca em lactação	10 de 05 de 06	11 de out de 2006	SN	1 para 20			
Valença	Sítio Bonfim	Valença	683	soro	vaca em lactação	05 de jan de 2007	07 de mar de 2007	SN	< 1 para 10
			684	soro	vaca em lactação	20 de jan de 2007	07 de mar de 2007	SN	< 1 para 10
			685	soro	vaca em lactação	09 de set de 2007	07 de mar de 2007	SN	< 1 para 10
			686	soro	vaca em lactação	dez de 2006	07 de mar de 2007	SN	< 1 para 10
Valença	Sítio Furnas	Chacrinha	601	soro	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	SN	> 1 para 80
			602	soro	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	SN	> 1 para 80
			603	soro	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	SN	> 1 para 80
			604	soro	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	SN	> 1 para 80
			615	crosta	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	PCR	negativo
			615	crosta	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	IV	negativo
			616	crosta	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	PCR	negativo
			616	crosta	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	IV	negativo

Tabela 11. Continuação

Município	Propriedade	Localidade	Protocolo	Material	Natureza do material	Data dos Sinais	Data da Coleta	Exame	Resultado
			617	crosta	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	PCR	positivo
			617	crosta	vaca em lactação	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	IV	positivo
			614	crosta	bezerro	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	PCR	positivo
			614	crosta	bezerro	01 de jul de 2006	28 de jul de 2006	IV	negativo
Valença	Sítio Acarapé	Passagem	680	soro	vaca em lactação	13 de out de 06	05 de abr de 2007	SN	1 para 80
			681	soro	vaca em lactação	13 de out de 06	05 de abr de 2007	SN	1 para 40
			682	soro	vaca em lactação	13 de out de 06	05 de abr de 2007	SN	1 para 10
Valença	Sítio Dois Irmãos	Conservatória	688	soro	vaca em lactação	15 e jun de 2006	13 de jul de 2006	SN	1 para 80
			689	soro	vaca em lactação		13 de jul de 2006	SN	1 para 80
			690	soro	vaca em lactação		13 de jul de 2006	SN	> 80
			691	soro	vaca em lactação		13 de jul de 2006	SN	> 80
Barra do Pirai	Sítio Branco	S. José Turvo	592	soro	vaca em lactação	jun de 2006	11 de out de 2006	SN	1 para 10
			593	soro	vaca em lactação	jun de 2006	11 de out de 2006	SN	1 para 20
			594	soro	vaca em lactação	jun de 2006	11 de out de 2006	SN	<1 para 10
			595	soro	vaca em lactação	jun de 2006	11 de out de 2006	SN	1 para 20
			596	soro	vaca em lactação	jun de 2006	11 de out de 2006	SN	1 para 10
Barra do Pirai	Sítio São Francisco	Barra do Pirai	611	crosta	vaca em lactação	01 de ago de 2006	10 de ago de 2006	IV	positivo
			611	crosta	vaca em lactação	01 de ago de 2006	10 de ago de 2006	PCR	positivo
			611	crosta	vaca em lactação	01 de ago de 2006	10 de ago de 2006	ME	positivo
			672	soro	vaca em lactação	01 de ago de 2006	19 de ago de 2006	SN	1 para 20
			673	soro	vaca em lactação	01 de ago de 2006	19 de ago de 2006	SN	> 80
			674	soro	vaca em lactação	01 de ago de 2006	19 de ago de 2006	SN	1 para 20
			675	soro	vaca em lactação	01 de ago de 2006	19 de ago de 2006	SN	> 80

Tabela 11. Continuação

Município	Propriedade	Localidade	Protocolo	Material	Natureza do material	Data dos Sinais	Data da Coleta	Exame	Resultado
Barra do Pirai	Sítio São Jorge	Barra do Pirai	676	soro	vaca em lactação	01 de ago de 2006	19 de ago de 2006	SN	> 80
			597	soro	vaca em lactação	19 de ago de 2006	11 de out de 2006	SN	1 para 80
			598	soro	vaca em lactação	19 de ago de 2006	11 de out de 2006	SN	> 80
Barra do Pirai	Faz Ibitira	Barra do Pirai	664	soro	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	SN	> 80
			665	soro	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	SN	> 80
			666	soro	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	SN	> 80
			667	soro	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	SN	1 para 80
			668	soro	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	SN	> 80
			669	crosta	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	IV	positivo
			669	crosta	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	PCR	positivo
			670	crosta	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	IV	negativo
			670	crosta	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	PCR	positivo
			671	crosta	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	IV	positivo
			671	crosta	vaca em lactação	03 de nov de 2006	10 de nov de 2006	PCR	positivo
Rio das Flores	Sítio São Sebastião	Rio das Flores	599	soro	vaca em lactação	15 de ago de 2006	25 de ago de 2006	SN	> 80
			600	soro	vaca em lactação	15 de ago de 2006	25 de ago de 2006	SN	< 1 para 10
			623	líquido vesicular	vaca em lactação	15 de ago de 2006	25 de ago de 2006	PCR	positivo
Pirai	Sítio Mangueira	Arrozal	703	soro	humano	11 de maio de 2007	25 de mai de 2007	SN	1 para 10
			705	soro	humano	16 de mai de 2007	29 de mai de 2007	SN	1 para 10
			706	líquido vesicular	humano	16 de mai de 2007	29 de mai de 2007	IV	Positivo

Tabela 11. Continuação

Município	Propriedade	Localidade	Protocolo	Material	Natureza do material	Data dos Sinais	Data da Coleta	Exame	Resultado
			706	líquido vesicular	humano	16 de mai de 2007	29 de mai de 2007	PCR	positivo
			710	crosta	humano	16 de mai de 2007	29 de mai de 2007	IV	negativo
			710	crosta	humano	16 de mai de 2007	29 de mai de 2007	PCR	positivo
			711	crosta	vaca em lactação	05 de mai de 2007	29 de mai de 2007	IV	positivo
			711	crosta	vaca em lactação	05 de mai de 2007	29 de mai de 2007	PCR	positivo
			712	soro	vaca em lactação	não teve sinais	29 de mai de 2007	SN	< 1 para 10
			713	soro	vaca em lactação	05 de mai de 2007	29 de mai de 2007	SN	1 para 80
			714	soro	vaca em lactação	05 de mai de 2007	29 de mai de 2007	SN	< 1 para 10
			715	soro	vaca em lactação	05 de mai de 2007	29 de mai de 2007	SN	1 para 80
			807	soro	humano	11 de maio de 2007	29 de mai de 2007	SN	1 para 40
Pirai	Sítio do Iran	Arrozal	716	soro	vaca em lactação	25 de mar de 2007	29 de mai de 2007	SN	< 1 para 10
			717	soro	vaca em lactação	25 de mar de 2007	29 de mai de 2007	SN	< 1 para 10
			718	soro	vaca em lactação	não teve sinais	29 de mai de 2007	SN	< 1 para 10
			719	soro	vaca em lactação	25 de mar de 2007	29 de mai de 2007	SN	>1 para 80
			720	soro	vaca em lactação	25 de mar de 2007	29 de mai de 2007	SN	1 para 40
Pirai	Sítio do Forte	Arrozal	704	soro	humano	06 de mai de 2005	25 de mai de 2007	SN	<1 para 10
			806	soro	humano	06 de mai de 2005	????	SN	1 para 40
			721	soro	vaca em lactação	15 de abr de 2007	29 de mai de 2007	SN	< 1 para 10
			722	soro	vaca em lactação	15 de abr de 2007	29 de mai de 2007	SN	1/160
			723	soro	bezerro	15 de abr de 2007	29 de mai de 2007	SN	1 para 40
Rio Claro	Faz Meia Laranja	Rio Claro	874	soro	humano	12 de jul de 2007		SN	<1 para 10
Rio Claro	Faz Monte Café	Rio Claro	876	soro	vaca em lactação	não teve sinais	29 de jun de 07	SN	1 para 80
			877	soro	vaca em lactação	29 de mai de 2007	29 de jun de 07	SN	1 para 80
			878	soro	vaca em lactação	29 de mai de 2007	29 de jun de 07	SN	1 para 160

Tabela 11. Continuação

Município	Propriedade	Localidade	Protocolo	Material	Natureza do material	Data dos Sinais	Data da Coleta	Exame	Resultado
			871	soro	humano	não teve sinais	29 de jun de 07	SN	<1 para 10
			872	soro	humano	12 de jul de 2007	29 de jun de 07	SN	1 para 160
			875	soro	humano	12 de jul de 2007	29 de jun de 07	SN	<1 para 10
Rio Claro	Sítio N. S. Aparecida	Rio Claro	873	soro	humano	não teve sinais	29 de jun de 07	SN	<1 para 10
Resende	Sítio dois Coqueiros	Fumaça	832	soro	vaca em lactação	02 de jun de 2007	22 de jun de 2007	SN	1 para 80
			833	soro	vaca em lactação	02 de jun de 2007	22 de jun de 2007	SN	1 para 80
			834	soro	vaca em lactação	02 de jun de 2007	22 de jun de 2007	SN	1 para 160
			835	soro	vaca em lactação	02 de jun de 2007	22 de jun de 2007	SN	1 para 80
			836	soro	vaca em lactação	não teve sinais	22 de jun de 2007	SN	1 para 40
			837	soro	vaca em lactação	não teve sinais	22 de jun de 2007	SN	1 para 160
			838	soro	vaca em lactação	não teve sinais	22 de jun de 2007	SN	1 para 160
			839	soro	vaca em lactação	não teve sinais	22 de jun de 2007	SN	1 para 80
			840	soro	vaca em lactação	02 de jun de 2007	22 de jun de 2007	SN	1 para 80
			844	crosta	vaca em lactação	17 de jun de 2007	22 de jun de 2007	IV	negativo
			845	crosta	vaca em lactação	17 de jun de 2007	22 de jun de 2007	IV	negativo
			845	crosta	vaca em lactação	17 de jun de 2007	22 de jun de 2007	PCR	positivo
			859	soro	humano	05 de jun de 2007	22 de jun de 2007	SN	1 para 80
			860	soro	humano	03 de jun de 2007	22 de jun de 2007	SN	1 para 160
			861	soro	humano	não teve sinais	22 de jun de 2007	SN	1 para 160
			862	soro	humano	não teve sinais	22 de jun de 2007	SN	<1 para 10
Resende	Sítio Cafundó	Fumaça	846	soro	vaca em lactação	não teve sinais	29 de jun de 07	SN	<1 para 10
			847	soro	vaca em lactação	fev de 2007	29 de jun de 2007	SN	1 para 20
			848	soro	vaca em lactação	fev de 2007	29 de jun de 2007	SN	1 para 20
			849	soro	vaca em lactação	não teve sinais	29 de jun de 2007	SN	<1 para 10

Tabela 11. Continuação

Município	Propriedade	Localidade	Protocolo	Material	Natureza do material	Data dos Sinais	Data da Coleta	Exame	Resultado
Resende	Sítio da Fumaça	Fumaça	841	soro	vaca em lactação	18 de jun de 2007	22 de jun de 2006	SN	<1 para 10
			842	soro	vaca em lactação	18 de jun de 2007	22 de jun de 2006	SN	<1 para 10
			843	soro	vaca em lactação	18 de jun de 2007	22 de jun de 2006	SN	<1 para 10
			856	soro	vaca em lactação	não teve sinais	22 de jun de 2006	SN	<1 para 10
			857	soro	bezerro	18 de jun de 2007	22 de jun de 2006	SN	<1 para 10
			858	soro	vaca em lactação	18 de jun de 2007	22 de jun de 2006	SN	<1 para 10
Resende	Sítio do Juca	Fumaça	851	soro	vaca em lactação	07 de jun de 2007	29 de jun de 2007	SN	1 para 20
			852	soro	vaca em lactação	07 de jun de 2007	29 de jun de 2007	SN	1 para 80
Resende	Sítio Bela Vista	Fumaça	853	soro	vaca em lactação	abr de 2007	29 de jun de 2007	SN	1 para 80
			854	soro	vaca em lactação	não teve sinais	29 de jun de 2007	SN	1 para 20
			855	soro	vaca em lactação	não teve sinais	29 de jun de 2007	SN	1 para 40

SN: Soroneutralização; ME: Microscopia Eletrônica; PCR: Reação em Cadeia de Polimerase; IV: Isolamento viral; fev: fevereiro; mar: março; abr: abril; mai: maio; Jun: junho; Jul: julho; ago: agosto; set: setembro; out: outubro; nov: novembro; dez: dezembro. As amostras que estão assinaladas com cores iguais pertencem ao mesmo paciente.

5. DISCUSSÃO

5.1 Epidemiologia dos Surtos

Infecções por poxvirus envolvendo bovinos e humanos após a vacinação contra a varíola, principalmente de pessoas ligadas à área rural, têm sido descritas em diferentes países (LUM et al., 1967; TOPCIU et al., 1976) e também no Brasil (MESQUITA; SCHATZMAYR, 1969). Neste último trabalho, os autores descrevem um surto de infecções em vacas leiteiras e em humanos, em uma propriedade rural de Barra do Piraí, após a vacinação dos ordenhadores durante a campanha nacional de erradicação da varíola. O vírus isolado de um dos animais infectados foi identificado como uma variante da amostra vacinal do Vaccinia vírus. No presente estudo, surtos de infecção pelo Vaccinia vírus ocorreram tanto em Barra do Piraí, quanto em outros cinco municípios do Sul do Rio de Janeiro, o que confirma a circulação de poxvirus nesta região do Estado.

Damaso et al. (2000), comprovaram que o vírus denominado Cantagalo, isolado naquele município, de animais com doença vesicular idêntica àquela observada em nossos casos, era um Orthopoxvirus, muito próximo, do ponto de vista molecular, da amostra do Vaccinia vírus utilizada no passado para preparo da vacina no Instituto Oswaldo Cruz. Posteriormente, outros autores confirmaram a circulação de vírus semelhantes ao Vaccinia vírus como causa de infecção em animais e humanos, principalmente na região sudeste do Brasil (DONATELLE et al., 2007; LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2005; SOUZA et al., 2003; NAGASSE-SUGAHARA et al., 2004; SCHATZMAYR et al., 2006; SIMONETT et al., 2007; TRINDADE et al., 2004; TRINDADE et al., 2006 A; TRINDADE et al., 2006 B).

Recentemente, um estudo realizado por NAGASSE-SUGAHARA (2004) de casos de doença vesicular em humanos, na região do Vale do Paraíba em São Paulo, indicou que esta região representa uma área de circulação de poxviroses, como foi confirmado neste trabalho.

A circulação do Vaccinia vírus em Estados do Brasil é fato confirmado e aceito, inclusive na literatura internacional (REGNERY 2007).

No presente estudo, características como a rápida disseminação da doença, a ocorrência restrita a vacas em lactação e a quase totalidade dos casos em propriedades que utilizavam ordenha manual, foram semelhantes às observadas em outros estudos (DONATELLE et al., 2007; LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2005; NAGASSE-SUGAHARA et al., 2004; TRINDADE et al., 2003). De acordo com estes autores e com o que observamos neste estudo, a proximidade de algumas das propriedades afetadas, a falta de higiene na ordenha, o que ocorre principalmente na prática de ordenha manual, e o contato entre as tetas e a mão do ordenhador durante a prática da ordenha, são fatores que contribuem fortemente para a rápida disseminação do vírus.

A falta de higiene da ordenha ocorre principalmente em propriedades que utilizam a ordenha manual. Na maioria das vezes, as propriedades com ordenha mecânica adotam medidas de desinfecção mais eficientes (LOBATO et al., 2005).

No presente trabalho, foi possível observar que, o tratamento das lesões dos tetos com solução a base de iodo e o manejo de ordenhar as vacas doentes por último, demonstrou serem práticas significativas para reduzir a disseminação da enfermidade nas propriedades afetadas.

DONATELLE et al. (2007) relataram que a introdução de bovinos oriundos de outra propriedade infectada, a utilização de mesma mão de obra (ordenhador) entre propriedades vizinhas e a proximidade entre as propriedades, contribuiu para a disseminação da doença.

Porém, neste estudo, em poucas fazendas foi relatada a introdução de bovinos ou de ordenhadores oriundos de outra propriedade infectada.

O caráter sazonal da enfermidade, com prevalência de casos na época da seca, está de acordo com o que foi relatado por DAMASO et al. (2000), DONATELLE et al. (2007), LEITE et al. (2005), LOBATO et al. (2005) e SIMONETT et al. (2007). Esta sazonalidade pode ocorrer devido a uma maior escassez de alimentos que os roedores enfrentam nesta época do ano. Durante os meses de inverno, os roedores se aproximam das criações de gado a procura de alimento (ração), facilitando a transmissão do vírus através do contato indireto com as excreções e secreções de roedores (DONATELLE et al. 2007; ROQUE et al., 2008).

DONATELLE et al. (2007) e LOBATO et al. (2005), relacionaram o caráter sazonal da poxvirose bovina ao fato de que na época da seca há uma maior possibilidade de ocorrer traumatismo nos tetos, pois a pele pode apresentar-se ressecada, aumentando o número de soluções de continuidade.

Em quase todas as propriedades houve casos de transmissão para humanos, mais especificamente, para os trabalhadores que lidavam diretamente com o gado leiteiro, o que configurou caráter zoonótico e ocupacional da enfermidade, de acordo com o que já foi relatado em outros trabalhos (LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2005; NAGASSE-SUGAHARA et al., 2004; SIMONETT et al., 2007; TRINDADE et al., 2003; TRINDADE et al., 2004; TRINDADE et al., 2006).

A perda econômica, principalmente devido a importante e significativa queda na produção leiteira, também foi relatada em estudos anteriores (DONATELLE et al., 2007; LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2005; TRINDADE et al., 2003; TRINDADE et al., 2006). Gastos com medicamentos e contratação de novos funcionários para a ordenha também contribuíram para aumentar essas perdas (DONATELLE et al., 2007).

5.2 Clínica e Epidemiologia da Infecção em Bovinos

Nos bovinos, as vesículas ocorreram principalmente nos tetos e secundariamente no úbere de vacas leiteiras, achado também observado em outros trabalhos (DONATELLE et al., 2007; LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2005; SCHATZMAYR et al., 2000; SIMONETT et al., 2007; TRINDADE et al., 2003; TRINDADE et al., 2006). Lesões na mucosa oral e região do focinho de bezerros lactentes também já foram descritas anteriormente (LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2005; REIS et al., 1970; SILVA et al., 1986). Porém, a lesão na língua de um bezerro, descrita neste trabalho, ainda não tinha sido descrita. Este achado deve ser levado em consideração, pois a possível disseminação viral através da saliva pode ser uma importante via de eliminação do agente, fato que ocorria com a varíola que causava, inicialmente, vesículas na faringe dos humanos acometidos (BREMAN; HENDERSON, 2002; SCHATZMAYR, 2001).

Neste estudo, foi possível observar que o período de transmissibilidade ocorre tanto na fase vesicular, quanto na fase de formação de crostas.

A transmissão da infecção pelo leite não foi observada no presente estudo, já que somente bezerros que mamavam diretamente em vacas clinicamente afetadas apresentaram lesões, ao contrário de bezerros que se alimentavam em baldes, mesmo quando o leite ingerido era oriundo de vacas clinicamente afetadas. Em um estudo preliminar, o isolamento do vírus a partir do leite de vacas infectadas foi negativo, confirmando a necessidade do contato direto para a transmissão do vírus (informação pessoa)².

² SCHATZMAYR, H. G. Instituto Oswaldo Cruz. 2008

A evolução média (3 semanas) da enfermidade observada neste estudo foi similar à relatada nos estudos de DAMASO et al. (2000), LEITE et al. (2005), LOBATO et al. (2005), SIMONETTI et al. (2007) e TRINDADE et al. (2006).

O aparecimento posterior de mastite nas tetas infectadas foi relatado tanto neste trabalho, como também por outros autores (DAMASO et al., 2000; LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2005; SIMONETTI et al., 2007).

Em duas propriedades com animais com lesões vesiculares e pustulares, as amostras coletadas foram negativas por técnica laboratoriais. Provavelmente, outros agentes podem estar envolvidos, como os Parapoxvírus que causam lesões semelhantes (BARTH et al., 2005; BULLER & PALUMBO, 2001; SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA 2005). Nestas propriedades, as lesões nas vacas se concentravam principalmente no úbere, e não nas tetas, como ocorreu na maioria dos casos estudados.

5.3 Clínica e Epidemiologia da Infecção em Humanos

Os pacientes deste estudo adquiriram a enfermidade através do contato direto com lesões de animais enfermos, mais especificamente pela atividade de ordenha, como foi observado em outros surtos causados por poxvírus (DONATELLE et al., 2007; LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2005; NAGASSE-SUGAHARA, 2004; SCHATZMAYR et al., 2000; SIMONETTI et al., 2007; TRINDADE et al., 2003; TRINDADE et al., 2006).

Das cinco propriedades estudadas onde não ocorreram casos em humanos, em duas o diagnóstico laboratorial das lesões em bovinos também não comprovou a presença de Orthopoxvirus, possivelmente devido à presença de outros agentes patogênicos, como os Parapoxvirus (BARTH et al., 2005; BULLER & PALUMBO, 2001; SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA 2005). Nas outras três não foi possível determinar a causa da ausência de infecção.

Embora a disseminação da enfermidade entre humanos tenha sido observada em alguns relatos de infecções causadas por poxvírus (DAMASO et al., 2000; LOBATO et al., 2005; TRINDADE et al., 2006), principalmente entre pessoas do mesmo convívio familiar a partir de contato direto, não verificamos neste estudo a transmissão direta ou indireta entre os pacientes. Todos os pacientes envolvidos tiveram contato direto com as lesões dos animais e eram trabalhadores das propriedades afetadas, fato também descrito por outros autores (NAGASSE-SUGAHARA, 2004; SCHATZMAYR et al., 2000; TRINDADE et al., 2003).

Neste estudo foi possível observar, através do relato do tempo entre o primeiro contato com uma teta infectada (na ordenha) até o aparecimento das primeiras lesões nas mãos, que o período de incubação nos humanos foi em média de uma semana. A evolução da enfermidade observada por DAMASO et al. (2000) e TRINDADE et al. (2006) foi de quinze a trinta dias e neste estudo variou de uma a duas semanas.

As características e localização das lesões e os principais sintomas locais e sistêmicos observados neste estudo, coincidem com outros trabalhos em que houve a infecção de ordenhadores e contactantes, a partir de vacas infectadas por poxvirus (DAMASO et al., 2000; LOBATO et al., 2005; TRINDADE et al., 2006). Em alguns surtos de poxvirose descritos (DAMASO et al., 2000; NAGASSE-SUGAHARA, 2004) os pacientes apresentaram grave sintomatologia e necessitaram de internação hospitalar.

Dois pacientes humanos, do sexo masculino, apresentaram lesões na face que apareceram alguns dias após o início das lesões nas mãos. Esta localização também foi observada em outros estudos de infecções por cepas do Vaccinia vírus (LERER et al., 2007; NAGASSE-SUGAHARA, 2004) Provavelmente, essas lesões foram adquiridas por contato direto a partir de solução de continuidade da pele da face em contato com as mãos.

5.4 Diagnóstico Laboratorial

Algumas amostras oriundas de animais foram negativas no isolamento e positivas na Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), o que demonstra que o diagnóstico molecular foi mais sensível do que o isolamento viral em células, pois este último pode ser muito prejudicado por contaminações das amostras que vem do campo (MESQUITA; SCHATZMAYR, 1969; SCHATZMAYR, 2000).

Nesse estudo comprovou-se que o exame sorológico é um método bastante adequado para o diagnóstico, como já documentaram SCHATZMAYR; DENNE (1974), pois em animais nunca vacinados contra o poxvírus, o método foi capaz de detectar anticorpos neutralizantes que persistem por vários meses, ao contrário do isolamento e do PCR que resultam negativos após quatro semanas, quando as crostas desaparecem. Em bovinos, ao contrário do que acontece em humanos infectados por vírus do grupo pox, ocorre uma rápida formação de anticorpos inibidores, fixadores e neutralizantes, fato importante no diagnóstico diferencial de outras infecções vesiculares (SCHATZMAYR; DENNE, 1974).

Nos seis municípios estudados, a enfermidade foi comprovada por exames laboratoriais.

O teste de PCR demonstrou que a cepa obtida nesse estudo é semelhante à cepa do Cantagalo vírus. Desta forma, confirmamos que cepas do Vaccinia vírus circulam no Estado e são intimamente relacionadas à cepa do Cantagalo vírus, que foi inicialmente descrita como originária de uma cepa vacinal utilizada pelo Instituto Oswaldo Cruz durante as campanhas de vacinação contra a varíola (DAMASO et al., 2000).

5.5 Origem dos Surtos

Os vírus isolados neste trabalho foram estudados molecularmente e foi comprovado que eram praticamente idênticos aos vírus vacinais utilizados na campanha nacional da erradicação da varíola. A presença desta cepa foi verificada e identificada inicialmente em Cantagalo, no estudo de Damaso et al. (2000), e posteriormente em Araçatuba, Passatempo, Vale do Paraíba em São Paulo e Goiás (DONATELLE et al. 2007; LEITE et al., 2005; LOBATO et al., 2005; SOUZA et al., 2003; NAGASSE-SUGAHARA et al., 2004; SCHATZMAYR et al., 2006; SIMONETT et al., 2007; TRINDADE et al., 2004; TRINDADE et al., 2006 A; TRINDADE et al., 2006 B). Em vários destes trabalhos, cita-se a provável adaptação das amostras vacinais na natureza. Hospedeiros ainda não totalmente reconhecidos, provavelmente roedores, podem ser os reservatórios do Vaccinia vírus, como indicam resultados preliminares obtidos por sorologia positiva de dois roedores, *Akodon spp* e *Oryzomys spp*, nos municípios do Noroeste do Estado e em Paraty, Sul do Estado (Comunicação Pessoal: SHATZMAYR, 2008). Fonseca et al. (1998) isolou uma cepa do Vaccinia vírus também de um roedor silvestre do gênero *Oryzomys*, reforçando esta hipótese da existência de reservatórios silvestres.

REGNERY (2007) enfatiza a capacidade que têm os Orthopoxvirus em se adaptar e sobreviver em novas espécies de animais; desta forma, tanto roedores como vetores poderiam estar implicados na transmissão desses vírus.

No Brasil, no município de Cotia, São Paulo, e na beira da Floresta Amazônica, cepas derivadas do Vaccinia vírus foram isoladas de roedores sentinelas. Esse achado sugere uma possível transmissão por artrópodes (FONSECA et al., 1998; FONSECA et al., 2002; LOPES et al., 1961).

A origem destas infecções recentes também foi discutida num estudo em Guarani (Minas Gerais) onde, em um mesmo surto, foram isoladas duas cepas distintas que representavam populações geneticamente diferentes do Vaccinia vírus. Esses achados

sugerem que essas viroses podem ter a mesma origem e derivar de um “escape” de cepas do vírus *Vaccinia* para a natureza, a partir do que teriam se diferenciado através de mutações e/ou recombinações, durante a circulação viral, ou que diferentes amostras de diferentes origens, sob circunstâncias diversas, poderiam ter-se estabelecido na natureza (REGNERY 2007; TRINDADE et al., 2006).

Durante a campanha de erradicação da varíola, a imunização no interior era feita de propriedade em propriedade e era comum restos de vacina serem deixados nos locais, sem cuidados maiores, favorecendo a disseminação da cepa viral (SCHATZMAYR; AZEREDO-COSTA 2005; SCHATZMAYR 2001). Além disso, o deslocamento de vacinadores de uma propriedade rural para outra, que utilizaram vacina viva de alto título viral, favoreceu a disseminação do *Vaccinia* vírus na natureza.

6. CONCLUSÕES

Amostras semelhantes ao Vaccinia vírus estão circulando pela região Sul do Estado do Rio de Janeiro.

A origem desta virose, o que tudo indica, pode estar relacionada à presença de amostras do Vaccinia vírus em reservatórios roedores silvestres e/ou vetores.

Os surtos de poxviroses relatados neste estudo, assim como os surtos anteriormente publicados, demonstram que esta enfermidade trata-se de uma zoonose de caráter ocupacional, que afeta principalmente os ordenhadores do gado de leite.

A gravidade dos sintomas em alguns dos pacientes humanos e as perdas econômicas relativas à infecção em vacas leiteiras, chama a atenção para a necessidade de assistência aos rebanhos acometidos para controle e prevenção da disseminação da enfermidade.

Os surtos de poxviroses apresentaram tendência sazonal, com concentração dos casos no período de seca ou estiagem.

Os numerosos relatos recentes sobre infecção emergentes por cepas do Vaccinia vírus no Brasil, evidenciam a necessidade de implementação de pesquisas futuras no campo da epidemiologia, patogenicidade, origem e evolução destas viroses.

Os achados clínicos em bezerros, principalmente das lesões na língua, não previamente descritas, também sugerem a importância de um estudo mais detalhado, principalmente quanto ao potencial de disseminação do vírus através da saliva, como ocorria na varíola humana.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; SZYFES, B. Virosis. In: _____. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre e a los animales**. 3 ed. Washington: Organização Pan-Americana de Saúde, 2003. p. 388-403. (Publicación científica y técnica).

ANDERSON, Michael G. J. D.; FRENKEL, Lawrence D.; HOMANN, Scott; GUFFEY, Jennifer. A case of severe monkeypox virus disease in an American child: emerging infections and changing professional values. **Pediatric Infection Disease Journal**, v 22, p. 12, 2003.

BARTH, O. M.; MAJEROWICZ, S.; ROMIJIM, R. C. F. S.; COSTA, C. H. C; OTÁVIO, J. R.; PIRES, A. R.; SCHNTZMAYR, H. G. Occurrence of Parapoxvirus infections in ovine flocks in the states of Rio de Janeiro. **Virus Reviews & Research**, v.1, n. 10, p. 23 -26, 2005.

BAXBY, D. Is Cowpox misnamed? A review of 10 human cases. **British Medical Journal**, v. 1, p. 1379-1381, 1997.

BAXBY, D.; BENNETT, M; GETTY, B. Human cowpox 1969-1963: a review based on 54 cases. **British Journal of Dermatology**, v. 131, p. 598-607, 1994.

BENNETT, M.; BAXBY, D.; GASKELL, R. M.; Kelly, D. F.; NAIDOOT, J. Feline cowpox virus infection. **Journal of Small Animal Practice**, v. 31, p. 167-173, 1990.

BIRTHHISTLE, K.; CARRINGTON, D. Molluscum contagiosum virus. **Journal of Infection**, 34: 21-28, 1997.

BREMAN, J. G.; HENDERSON, D. A. Diagnosis & management of Smallpox. **The New English & Journal of Medicine**, v. 346, n. 17, p.1300-1308. 2002.

BRENNER, S.; HORNE, R. W. A negative staining method for high resolution electron microscopy of viruses. **Biochim Biophys Acta**, 34, p. 103-110, 1959.

BULLER, R. M. L.; PALUMBO, G.J. Poxvirus pathogenesis. **Microbiological Reviews**. p. 80-122, mar. 1991.

CHANTREY, J.; MEYER, H.; BAXBY, D.; BEGON, M.; BOWN, K. J.; HAZEL, S. M.; JONES, T.; MONTGOMERY, W. I.; BENNETT, M. Cowpox: reservoir hosts and geographic range. **Epidemiology and Infection**, v. 122, p. 455-460, 1999

DAMASO, C. R. A.; ESPODITO J. J.; CONDIT, R. C. MPUSSATCHÉ, N. Na emergent Poxvirus from humans & catle in Rio de Janeiro State: Cantagalo Virus may derive from Brazillian Smallpox Vaccine. **Virology**, v. 277, p.439-449, 2000.

- DONATELE, D. M.; TRAVASSOS, C. E. P. F.; LEITE, J. A.; KROON, E. O. Epidemiologia da poxvirose bovina no Estado do Espírito Santo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.44, n. 4, p. 275-282, 2007.
- FONSECA, F. G.; LANNA, M. C. CAMPOS, M. A. S. KITAJIMA, E. W.; PERES, J. N.; GOLGHER, R. R.; FERREIRA, P. C. P.; KROON, E. G. Morphological & molecular characterization of the poxvirus BeAn 58058. **Arch Virol.** , v. 143, p. 171-1186, 1998.
- FONSECA, F. G.; TRINDADE, G. S.; SILVA, R. L.; BONJARDIM, C. A.; FERREIRA, P. C. P.; KROON, E. G. Characterization of a vaccinia –like virus isolated in a Brazilian forest – Short Communication. **Journal of General Virology**, v. 83, p. 223-228, 2002.
- GIBBS, E. P. J.; JONHSON, R. H. Cowpox in a Dairy Herd in the United Kingdom. **The Veterinary Record.**, p. 56-64, janeiro 1973.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. E. Moléstias causadas por agentes virais Poxvirus. In: _____. **Patologia Veterinária**. 6 ed. Manole. 2000. p. 211-218.
- LEITE, J. A.; DRUMOND, B. P.; TRINDADE, G. S.; LOBATO, Z. I. P.; FONSECA, F. G.; SANTOS, J. R.; MADUREIRA, M. C.; GUEDES, M. I. M. C.; FERREIRA, J. M. S.; BINJARDIM, C. A.; FERREIRA, P. C. P.; KROON, E. G. Passatempo Virus, a Vaccinia Virus Strain, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.11, n. 12, p. 1935-1938, 2005.
- LERER, C.; PEREIRA, M. R.; ORMIGA, P.; PALMA, F.; SILVA, G. F.; RITO, C.; FLORES, V.; SCHATZMAYR, H. G. Vesicopustular facial infection related to poxvirus. **Virus Reviews & Research**, v.12, n. 01-02, p. 43-44, 2007.
- LEWIS-JONES, S. Zoonotic poxvirus infections in humans. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 17, p. 81-89, 2004.
- LOBATO, Z. I. P.; FROIS, M. C. M ; TRINDADE, G. S.; GUEDES, M. I. M. C. ; KROON, E. G. Variola bovina: zoonose reemergente avança em Minas Gerais. **V & Z em Minas**. Revista do Conselho Regional de Medicina Veterinária de Minas Gerais., n. 83, p. 18-20, 2004.
- LOBATO, Z. I. P.; TRINDADE, G. S.; FROIS, M. C. M.; RIBEIRO, E. B. T.; DIAS, G. R. C.; TEIXEIRA, B. M.; LIMA, F. A.; ALMEIDA, G. M. F.; KROON, E. G. Surto de variola bovina causada pelo vírus *Vaccinia* na região da Zona da Mata Mineira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v. 57, n. 4, p. 423-429, 2005.
- LOPES, O. S.; LACERDA, J. P. G.; FONSECA, I. E. M.; CASTRO, D. P.; FORANTTINI, O. P.; RABELLO, E X. Cotia Vírus: a new agent isolated from Sentinel Mice in São Paulo, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.14, n. 1, p. 156-157, 1965.
- LUM G. S.; SORIANO F.; TREJOS A.; LLERENA J. Vaccinia epidemic & epizootic in El Salvador. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.16, n. 02, p. 332-338, 1967.

MAZUR, C.; FERREIRA, I. I.; RANGEL FILHO, F. B.; GALLER, R. Molecular characterization of Brazilian isolates of orf vírus. **Veterinary Microbiology.**, v. 73, p. 253-259, 2000.

MESQUITA J. A.; SCHATZMAYR, H. G. Estudos laboratoriais de infecções humanas e de bovinos com vírus do grupo pox. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 3, n. 4, p. 171-175, jul-ago. 1969.

NAGASSE-SUGAHARA, T. K.; KISIELIUS, J. J.; UEDA-ITO, M.; CURTI, S. P.; FIGUEIREDO, A.; CRUZ, A. S.; SILVA, M. M. J.; SILVA, C. C.; SAKURAI, T.; SALLES-GOMES, L. F. Humman Vaccinia Like Virus outbreaks in São Paulo & Goiás States, Brazil: virus detection, isolatios & indetification. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, n. 6, p. 315-322, 2004.

RAHALEY, S.; MUELLER, R. E.; Molluscum contagiosum in a horse. **Veterinary Pathology**, v. 20, p. 247-250, 1983.

REGNERY, R. L. Poxviroses and the passive quest for novel hosts. In: CHILDS, J. E.; MACKENZIE, J. S.; RICHT, J. A. **Wild Life & Emergency Zoonotic Diseases: the biology, circumstances and consequences of cross-species transmission.** Verlag: Springer, 2007. p. 345-361.

REIS, R.; FIGUEIREDO, B. J.; PACHECO, M. Variola bovina: aspectos clínicos, caraterísticas do vírus e observações sobre vacinação. **Arquivos da Escola Superior de Veterinária do Estado de Minas Gerais**, v. 22, p. 213-216, 1970.

ROOP, S. L.; ESPOSITO, J. J.; LOPAREV, V. N, PALUMBO, G. J. Poxviruses infecting humans. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J. O.; FALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. (Eds). **Manual of Clinical Microbiology**, 7. ed. Washington, 1999. p. 1137-1143.

ROQUE, A. L. R.; XAVIER, S. C. C.; ROCHA, M. G.; DUARTE, A. C. M.; D'ANDREA, P. S.; *Trypanosoma cruzi* Transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas disease outbreaks. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 5, p. 742-749, 2008.

SARTORI-BARRAVIERA, S. R. C.; MARQUES, S. A.; STOLF, H. O.; SILVARES, M. R. C.; MARQUES, M. E. A. Nódulos dos ordenhadores: relato de dez casos. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. Rio de Janeiro, v. 72, n. 5, p. 447-480, set.-out. 1997.

SCHATZMAYR, H. G. A Variola: uma antiga inimiga. **Caderno de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 17. n. 6, p. 1525-1530, nov.- dez. 2001.

SCHATZMAYR, H. G.; AZEREDO-COSTA, E.. In: COURA, J. R. **Dinâmica das Doenças Infeciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p. 1936-1944.

SCHATZMAYR, H. G; DENNE, Y. S. Anticorpos para o vírus Vaccínia na Infecção Experimental em bovinos. **Pesqui. agropecu. bras., Vet.**, v. 9, p. 25-28, 1974.

SCHATZMAYR, H. G.; LEMOS, E. R. S.; MAZUR, C.; SCHUBACH, A.; MAJEROWICZ, S.; ROZENTAL, T.; SCHUBACH, T. M. P.; BUSTAMANTE, M. C.; BARTH, O. M. Detection of poxvirus in cattle associated with human cases in the state of Rio de Janeiro: preliminary report. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 5, p. 625-627, 2000.

SILVA, P. L.; VIANA, F. C. RIBEIRO, S. C.; COELHO H. E.; LÚCIO, W. F.; OLIVEIRA, P. R. Surto de Varíola Bovina no Município de Prata – MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 38, n. 3, p. 323-330, 1986.

SIMONETTI, B.; ABREU, D. C.; GONÇALVES, M. C. R.; SILVA, M. E. V.; BARTH, M. O.; SCHATZMAYR, H. G. Animal infections by Vaccinia – like viroses in the state of Rio de Janeiro: 1- northwestern region. **Virus Reviews & Research**, v.12, n. 01-02, p. 32-36, 2007.

STOTT, J. L. Poxviridae. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 340-344.

TOPCIU, V.; LUCA, I.; MOLDOVAN, E.; STOIANOVICI, V.; PLAVOSIN, L.; MILIN, D.; WELTER, E. Transmission of vaccinia virus from vaccinate milkers to cattle. **Virology**, v. 27, n. 4, p. 279-282, 1976.

TRINDADE, G. S.; EMERSON, G. L.; CARROL, D. S.; KROON, E. G.; DAMON, I. K. Brazilian Vaccinia Viruses & Their Origins. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 7, p. 965-972, 2007.

TRINDADE, G. S.; FONSECA, F. G.; MARQUES, J. T.; NOGUEIRA, M. L.; MENDES, L. C.; BORGES, A. S.; PEIRÓ, J. R.; PITUCO, E. M.; BONJARDIM, C. A.; FERREIRA, P. C. P.; KROON, E. G. Araçatuba Virus: a vaccinia-like virus associated with infection in humans & cattle. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 2, p. 155-160, 2003.

TRINDADE, G. S.; LOBATO, Z. I. P.; DRUMOND, B. P.; LEITE, J. A.; TRIGUEIRO, R. C.; GUEDES, M. I. M.; FONSECA, F. G.; SANTOS, J. R.; BONJARDIM, C. A.; FERREIRA, P. C. P.; KROON, E. G. Short report: isolation of two Vaccinia Virus strain from a single bovine Vaccinia outbreak in Rural Area from Brazil: Implications on the emergence of zoonotic Orthopoxviruses. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 486-490, 2006.

UEDA, Y.; DUMBELL, K. R.; TSURUHARA, T.; TAGAYA, I. Studies on Cotia virus: an unclassified poxvirus. **Journal of General Virology**, v. 40, p. 263-276, 1978.