

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS URUGUAIANA**

LUIZA GAZETA PASSOS

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO CURRICULAR
SUPERVISIONADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

Área de concentração: Saúde Pública e Zoonoses

**Uruguaiiana
2023**

LUIZA GAZETA PASSOS

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO CURRICULAR
SUPERVISIONADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

Relatório do Estágio Curricular
Supervisionado em Medicina Veterinária
da Universidade Federal do Pampa,
apresentado como requisito parcial para
obtenção do Título de Bacharel em
Medicina Veterinária.

Orientador: Prof^a. Dra. Débora da Cruz Payão Pellegrini

**Uruguaiiana
2023**

LUIZA GAZETA PASSOS

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO CURRICULAR
SUPERVISIONADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

Relatório do Estágio Curricular
Supervisionado em Medicina Veterinária
da Universidade Federal do Pampa,
apresentado como requisito parcial para
obtenção do Título de Bacharel em
Medicina Veterinária.

Relatório defendido e aprovado em: 27 de novembro de 2023.

Banca examinadora:

Prof^a. Dra. Débora da Cruz Payão Pellegrini
Orientadora
UNIPAMPA

Prof. Dr. Mário Celso Sperotto Brum
UNIPAMPA

Prof^a. Dra. Carolina Kist Traesel
UNIPAMPA

AGRADECIMENTO

Ao meu pai Saulo, que sempre foi minha base e tornou tudo isso possível. Você é meu exemplo de pesquisador e profissional.

À minha mãe Rosa Estela, que foi respiro e afeto durante a elaboração deste trabalho.

Ao meu irmão Lucas, parceiro desta e de outras vidas.

À minha família, que sempre vibrou de alegria com todas as minhas conquistas.

À minha eterna orientadora, Prof^a. Dra. Francielli Cibir, que me acolheu durante os cinco anos de graduação e me ensinou a ser uma grande profissional.

À equipe do Laboratório de Estresse Oxidativo da UNIPAMPA, que me acompanhou durante os anos de estágio na faculdade e proporcionou momentos incríveis.

Ao meu coorientador de trabalhos do SIEPE e amigo Diogo Bicca, que me apresentou o mundo da pesquisa.

À minha orientadora de estágio curricular, Prof^a. Dra. Debora Pellegrini, que me incentivou a seguir no caminho da Saúde Pública.

Aos meus amigos Luiza, Gustavo, Letícia, Caroline, Pedro, Lorena e Karina, que foram minha família no Sul. Meus dias com vocês foram melhores do que um dia imaginei.

Aos residentes da UNESP e amigas de estágio curricular, que me ensinaram muito e deixaram saudades.

Aos meus supervisores de estágio o meu muito obrigada por todos os ensinamentos.

E por fim e não menos importante, à minha companheira canina, Maria Bethânia, que carrega no olhar todo o amor que recebemos por onde passamos. Ela me cativa desde março deste ano e fez o caminho até a finalização deste relatório muito mais divertido.

“O que busquei e não encontrei, me tornei”.

Ryane Leão

RESUMO

O presente relatório descreve a rotina e as atividades acompanhadas e realizadas pela discente Luiza Gazeta Passos, durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária (ECSMV), sob orientação da Prof^a. Dra. Debora da Cruz Payão Pellegrini. O ECSMV foi realizado no Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, com ênfase no diagnóstico de zoonoses e planejamento em saúde animal e saúde pública. As atividades foram desenvolvidas no período de 07/08/2023 a 27/10/2023, totalizando 450 horas, sob supervisão do Prof. Dr. Felipe Fornazari e Prof. Titular José Rafael Modolo. O trabalho discute o diagnóstico laboratorial de raiva e leishmaniose e a realização da 2ª Ação de Saúde Pública Veterinária, contemplando os resultados da campanha bem como sua importância no contexto da Saúde Pública. Além disso, aborda a rotina da Vigilância Ambiental em Saúde de Botucatu, demonstrando ações de controle de zoonoses, como Raiva e Dengue

Palavras-Chave: Raiva, Leishmaniose, Saúde Pública Veterinária, Vacina Antirrábica.

ABSTRACT

This report seeks to describe the routine and activities executed by the student Luiza Gazeta Passos, during the Supervised Curricular Internship in Veterinary Medicine, under the guidance of Prof. Dr. Debora da Cruz Payão Pellegrini. The internship was developed at the Department of Veterinary Hygiene and Public Health, at the São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu Campus, with emphasis on the diagnosis of zoonoses and planning in animal health and public health. The activities were developed from 08/07/2023 to 10/27/2023, totaling 450 hours, under the supervision of Prof. Dr. Felipe Fornazari and Prof. Holder José Rafael Modolo. The work discusses the laboratory diagnosis of rabies and leishmaniasis and the development of the 2nd Veterinary Public Health Action, describing the results of the campaign as well as its importance in the context of Public Health. In addition, it shows the routine of Botucatu's Environmental Health Surveillance, in the control of zoonoses, like Rabies and Dengue Fever.

Key words: Rabies, Leishmaniasis, Veterinary Public Health, rabies vaccine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vista lateral do Prédio I (A) e entrada principal do Prédio I (B).	15
Figura 2 - Laboratório do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses, evidenciando a área da lavagem dos materiais (A) e bancada (B)	16
Figura 3 – Infectório de Diagnóstico de Raiva.	17
Figura 4 - Lavatório.	18
Figura 5 - Sala dos residentes (A) e sala das estagiárias (B).	19
Figura 6- Enriquecimento ambiental para camundongos.	21
Figura 7 – Estantes para gaiolas de camundongos inoculados com amostras suspeitas de raiva.	22
Figura 8 – Etapas de preparação da solução salina tamponada.	23
Figura 9 – Organização da bancada para diagnóstico de raiva em quiróptero.	24
Figura 10 - Realização do imprint na lâmina quadriculada.	25
Figura 11 - Lâminas imersas em acetona.	26
Figura 12 - Maceração das porções cerebrais.	27
Figura 13 - Local para inoculação intracerebral. Vista dorsal (A) e vista facial (B).	28
Figura 14 - Controle de Prova Biológica.	29
Figura 15 - Desenho esquemático.	32
Figura 16 - Lâminas na câmara úmida.	32
Figura 17 - Amostra positiva para leishmaniose canina.	33
Figura 18 - Logo da 2ª Ação de Saúde Pública Veterinária.	36
Figura 19 - Distribuição de cartazes (A) e o cartaz do evento (B).	37
Figura 20 - Local da ação.	37
Figura 21 - Ilhas do evento.	38
Figura 22 - Ilha de vacinação.	38
Figura 23 - Maquete para orientação de controle de criadouros, Vigilância Ambiental em Saúde.	39
Figura 24 - Disposição das barracas ao longo do evento.	40
Figura 25 - Mapeamento da origem dos tutores, evidenciando o Bairro Jardim Continental (círculo azul).	45
Figura 26 – Setor de ranicultura da UNESP Botucatu.	46
Figura 27 - Coleta (A) e armazenamento (B) de larvas.	47
Figura 28 - Sifão da larva de <i>Aedes aegypti</i> (círculo vermelho).	47

Figura 29 - Marcas de espoliação em equino (A) e colônia de morcegos (B).	48
Figura 30 - Cadeia epidemiológica de transmissão da raiva.	49

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Número de espécies recebidas pelo setor de Diagnóstico de Zoonoses, entre 7 e 25 de agosto de 2023, da UNESP.	30
Gráfico 2 - Resultados dos diagnósticos de Leishmaniose Canina no setor de Diagnóstico de Zoonoses, entre 7 e 25 de agosto de 2023, da UNESP.	34
Gráfico 3 - Títulos das amostras positivas para Leishmaniose Canina, processadas no laboratório do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da UNESP, entre 7 e 25 de agosto de 2023.	35
Gráfico 4 - Sexo e castração de cães vacinados durante a ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.	41
Gráfico 5 - Sexo e castração dos gatos vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.	42
Gráfico 6 - Idade dos cães vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.	42
Gráfico 7 - Idade dos gatos vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.	43
Gráfico 8 - Perfil de mobilidade dos cães vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.	43
Gráfico 9 - Perfil de mobilidade dos gatos vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.	44
Gráfico 10 - Situação vacinal dos cães vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.	44
Gráfico 11 - Situação vacinal dos gatos vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.	45

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Quantidade de sais nas soluções salinas tamponadas.

23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVMA - *American Veterinary Medical Association*

CN - Cérebro Normal

CFMV – Conselho Federal de Medicina Veterinária

CRMV/SP - Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo

CVS - *Challenge Virus Standard*

DHVSP - Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

DTN – Doença tropical negligenciada

ECSMV - Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária

EPI - Equipamentos de Proteção Individual

LV - Leishmaniose Visceral

MAPA – Ministério da Agricultura e Pecuária

NASF – Núcleo de Apoio à Saúde da Família

OMS - Organização Mundial da Saúde

PB - Prova Biológica

PNPR – Programa Nacional de Profilaxia da Raiva

RID - Reação de Imunofluorescência Direta

RIFI - Reação de Imunofluorescência Indireta

RT – Responsável Técnico

RT-PCR – Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

SDZ - Serviço de Diagnóstico de Zoonoses

SNC - Sistema Nervoso Central

SP - São Paulo

SST - Solução Salina Tamponada (SST)

UNESP - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

VAS - Vigilância Ambiental em Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	15
2.1 Local de estágio	15
2.2 Atividades no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses	19
2.2.1 Diagnóstico laboratorial de raiva	23
2.2.2 Diagnóstico laboratorial de leishmaniose	30
2.3 Atividades no planejamento em saúde animal e saúde pública	35
3 DISCUSSÃO	49
3.1 Raiva e saúde pública	49
3.1.1 Medidas de controle	52
3.2 Leishmaniose	54
3.2.2 Controle da doença	55
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
REFERÊNCIAS	57
ANEXOS	61

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define a saúde como “um estado de completo bem-estar físico, mental e social e não apenas a ausência de doença”. No Brasil, a saúde pública é definida pelas práticas e medidas de responsabilidade do Estado, para prestação de serviços de prevenção e assistência à saúde (VELLOSO et al., 2016). Além disso, cabe conceituar também a saúde única, que, segundo o Ministério da Saúde, é definida como uma “abordagem global multissetorial, transdisciplinar, transcultural, integrada e unificadora que visa equilibrar e otimizar de forma sustentável a saúde de pessoas, animais e ecossistemas, que estão intimamente ligados e são interdependente” (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

O curso de medicina veterinária dispõe de disciplinas que promovem o conhecimento acerca do ciclo de parasitas e vetores, das zoonoses e seus diagnósticos e da interação do meio ambiente com a saúde animal e humana, entre elas microbiologia, parasitologia, saúde pública e zoonoses por exemplo. Por isso, a união do conhecimento por médicos veterinários e profissionais da saúde humana (como médicos e enfermeiros) é de suma importância para garantir e tornar mais eficiente a promoção integral da saúde (LIMA JÚNIOR, 2011).

Na medicina veterinária, o exercício da profissão e criação dos Conselhos Federal e Regionais de Medicina Veterinária (organizações fiscalizadoras dos profissionais da área) encontram-se na Lei nº 5517/1968. Porém, apenas em 1998, a medicina veterinária foi reconhecida pelo Conselho Nacional de Saúde como profissão da área de saúde. Assim, em 2011, é incluída como possível área de atuação do médico veterinário trabalhar em conjunto com profissionais de diversas áreas do Núcleo de Apoio à Saúde da Família (NASF) (CRMV, 2011).

Segundo o Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo (CRMV/SP), na saúde pública o médico veterinário é responsável por prevenir e controlar zoonoses, doenças que atingem animais, podendo infectar pessoas, como dengue, leptospirose, brucelose, raiva e leishmaniose. As zoonoses podem ser classificadas segundo o sentido de transmissão e o ciclo de manutenção do agente etiológico. Quanto ao sentido de transmissão, destacam-se as antropozoonoses, doenças que se perpetuam pela transmissão entre animais, podendo acometer humanos (como a raiva) e as zooantroponoses, enfermidades transmitidas entre os seres humanos, eventualmente acometendo animais (VASCONCELLOS, 2013). Por

isso, o médico veterinário pode trabalhar no setor público na vigilância ambiental, sanitária, epidemiológica ou ainda em laboratórios, inclusive sendo uma das poucas profissões que pode assinar como Responsável Técnico (RT) para emissão de laudos, segundo a Resolução nº 831, de 14 de julho de 2006.

Para a conclusão do curso é necessária a realização do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária (ECSMV), no qual o discente pode escolher a área de concentração. Durante o período de estágio, é possível acompanhar a rotina e as atividades dos profissionais da área, aprimorando e colocando em prática os conhecimentos previamente adquiridos na graduação.

Devido à afinidade com a área de saúde pública e zoonoses, optou-se por realizar o ECSMV no Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública (DHVSP), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP). O estágio ocorreu com a orientação da Prof^a. Dra. Debora da Cruz Payão Pellegrini. A supervisão foi realizada pelo Prof. Dr. Felipe Fornazari, durante as atividades no laboratório do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ) e Infectório de Diagnóstico de Raiva. O Prof. Titular José Rafael Modolo, supervisionou as atividades desenvolvidas no Planejamento em Saúde Animal e Saúde Pública, no período de 07/08/2023 a 27/10/2023, totalizando a carga horária de 450h. A carga horária foi distribuída entre atividades no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses, de 07/08/2023 a 25/08/2023 e no Planejamento de Saúde Animal, de 28/08/2023 a 27/10/2023.

O presente relatório abordará as atividades acompanhadas no laboratório do SDZ, incluindo as técnicas laboratoriais para diagnóstico de raiva e leishmaniose, a organização da 2ª Ação de Saúde Pública Veterinária, que ocorreu durante o estágio no setor de Planejamento em Saúde Animal e Saúde Pública, e o acompanhamento da Vigilância Ambiental em Saúde (VAS) de Botucatu.

Para a discussão, serão apresentados os resultados dos diagnósticos acompanhados, controle de morcegos, educação permanente em saúde acerca da raiva e resultados da ação, enaltecendo a importância da vacinação antirrábica.

2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

2.1 Local de estágio

O ECSMV foi realizado no prédio I do DHVSP, da UNESP, Campus de Botucatu, situado na Rua Prof. Dr. Walter Maurício Corrêa, S/Nº, Botucatu, São Paulo. Durante o período de estágio, o DHVSP era chefiado pelo Prof. Dr. Antonio Carlos Paes.

Neste prédio (Figura 1) que se localizavam os laboratórios: do SDZ, de Imunodiagnóstico, Planejamento em Saúde Animal, Diagnóstico Microbiológico, Pesquisa em Bacteriologia e Extração de Ácidos Nucleicos. Além disso, havia as salas dos médicos veterinários do SDZ e Planejamento em Saúde Animal, dos professores, secretaria e banheiros. Já o Infectório de Diagnóstico de Raiva estava localizado em anexo ao laboratório do SDZ, em uma unidade afastada, devido ao risco biológico, já que era neste local que ocorria o processamento de amostras para o diagnóstico de Raiva.

Figura 1 - Vista lateral do Prédio I (A) e entrada principal do Prédio I (B).



Fonte: o autor.

O SDZ possuía laboratório com estrutura e equipamentos necessários para o diagnóstico das seguintes zoonoses: raiva, leishmaniose, toxoplasmose e leptospirose (Figura 2), sendo credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária

(MAPA) como Laboratório Oficial no diagnóstico de Raiva animal. Além disso, as atividades eram realizadas conforme as recomendações técnicas para o Nível de Biossegurança 3.

Figura 2 - Laboratório do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses, evidenciando a área da lavagem dos materiais (A) e bancada (B).



Fonte: o autor.

Dentre os equipamentos disponíveis no laboratório do SDZ destacavam-se: três estufas, sendo cada uma destinada a uma função específica (secagem de utensílios laboratoriais e vidrarias, incubação e secagem de lâminas para os exames e armazenamento de tubos com meio de *Fletcher* e sorovares de *Leptospira* spp.), um microscópio óptico para diagnóstico de leptospirose, um pHmetro de bancada, um

agitador magnético, uma balança eletrônica, dois freezers de -20°C para armazenamento de amostras, uma geladeira para conservação de reagentes e meios de cultivo, uma cabine de fluxo laminar para manipular as sorovares de *Leptospira* spp, uma autoclave vertical analógica, centrífuga de tubos e um deionizador de água. Quanto ao mobiliário de apoio, havia uma bancada para realização dos exames, bancos, armários para guardar vidrarias, reagentes, tubos, ponteiros de pipetas, *ependorfs* e microplacas de microtitulação.

Infectório é o local de manutenção e manipulação de organismos experimentalmente infectados, neste caso camundongos inoculados com amostras suspeitas para raiva (ANDRADE et al., 2002). Assim, o Infectório de Diagnóstico de Raiva (Figura 3) era equipado com um microscópio, uma cabine de fluxo laminar (para passagem dos meios de cultivo e repique), quatro estantes ventiladas e climatizadas (para manter as gaiolas dos camundongos utilizados nos exames), centrífuga, freezer e geladeira, uma câmara de vidro para a eutanásia dos camundongos, bancadas e bancos. Os materiais utilizados (algodão, seringas, agulhas, lâminas quadriculadas para o diagnóstico de raiva) eram organizados nos armários e gavetas disponíveis.

Figura 3 – Infectório de Diagnóstico de Raiva.



Fonte: o autor.

A higienização das gaiolas era realizada no lavatório anexo ao infectório (Figura 4). É importante ressaltar que os laboratórios disponibilizam equipamentos de proteção individual (EPI) como luvas, máscaras e óculos de proteção.

Figura 4 - Lavatório.

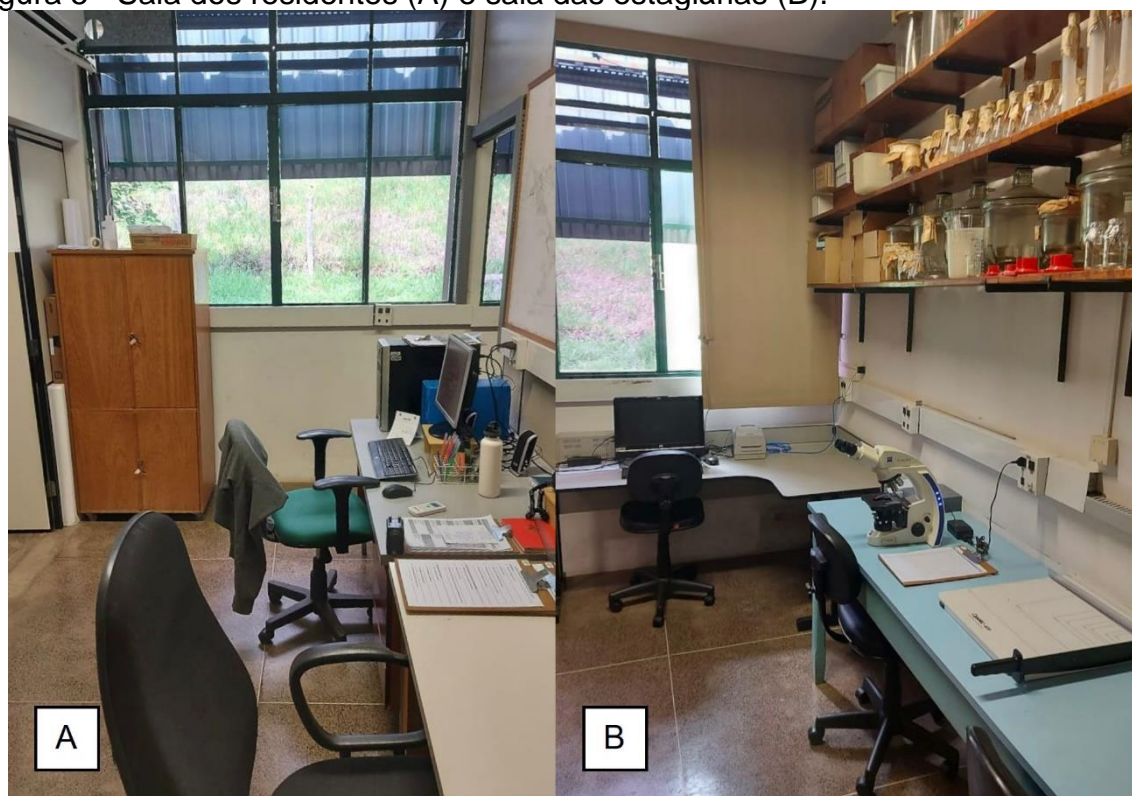


Fonte: o autor.

As atividades relacionadas ao planejamento em saúde animal aconteciam na sala dos residentes desta área e em anexo havia uma sala destinada às estagiárias para elaboração das atividades (

Figura 5). Foi nesta sala que todo o material utilizado na 2ª Ação de Saúde Pública Veterinária foi desenvolvido e preparado.

Figura 5 - Sala dos residentes (A) e sala das estagiárias (B).



Fonte: o autor.

2.2 Atividades no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses

O SDZ oferece exames diagnósticos para leishmaniose, leptospirose, raiva e toxoplasmose. Durante o período de estágio, foi possível acompanhar e executar apenas os métodos de diagnóstico de raiva e leishmaniose. As atividades eram desenvolvidas de segunda a sexta-feira, das 8h às 18h, supervisionadas pelas quatro residentes do serviço e pelo supervisor de estágio. Durante o período de estágio, mais duas estagiárias participavam da rotina. Todas as estagiárias participavam ativamente da rotina do laboratório, executando desde a limpeza do material até o processamento das lâminas. O material recebido era registrado no banco de dados do setor, organizado em uma planilha com subdivisões para cada doença. Os dados completados seguiam a ordem: número da amostra, data, nome do animal, cidade de origem, espécie, requisitante e resultado. Após o cadastramento, as amostras eram encaminhadas para processamento e posterior análise.

Para o diagnóstico de leptospirose, leishmaniose e toxoplasmose era utilizado soro do animal para a execução da reação de imunofluorescência indireta (RIFI). As amostras de sangue recebidas eram provenientes de diferentes setores do Hospital

Veterinário da UNESP (grande parte da Clínica de Moléstias Infecciosas), centro de reprodução de bovinos, clínicas e hospitais particulares. Após o recebimento e cadastramento, centrifugava-se o tubo para obtenção do soro, sendo este transferido para um microtubo tipo *Eppendorf*® de 2,0 ml e armazenado no congelador até seu processamento. Durante o período acompanhado, foi possível realizar apenas as técnicas diagnósticas de raiva e leishmaniose.

O preparo das amostras para diagnóstico de raiva acontecia no Infectório. Avaliam-se *imprints* de fragmentos do encéfalo a partir da reação de imunofluorescência direta (RID), para identificação dos corpúsculos de Negri, e prova biológica (PB) através da inoculação intracerebral do sobrenadante resultante do macerado dos fragmentos cerebrais e solução diluente em camundongos. Chegavam até o setor encéfalos de caninos, felinos, bovinos, equinos, quirópteros (morcegos), entre outros, através dos serviços da VAS de Botucatu, prefeituras de demais localidades com suspeita da doença. Foi possível realizar, com a supervisão de uma residente do SDZ, um exame de RID para diagnóstico de Raiva e a preparação do macerado.

Os camundongos eram disponibilizados pelo biotério do Instituto de Biotecnologia da instituição e chegavam ao laboratório recém-desmamados ou com 21 dias de idade em gaiolas grandes com quantidades que variam de 20 a 25 animais. Recomenda-se não utilizar animais com mais de 21 dias, devido à diminuição da susceptibilidade ao vírus e ao endurecimento do crânio, dificultando a inoculação (KOPROWSKI et al., 1996). Os animais recém-chegados e inoculados permaneciam em estantes climatizadas separadas até o final do diagnóstico. Os animais inoculados eram alocados em gaiolas menores que comportam cinco indivíduos e são identificadas com o número da amostra recebida, previamente cadastrada no banco de dados do SDZ. Como forma de enriquecimento ambiental são colocadas caixas de luva cortadas ou rolos de papelão (Figura 6).

Figura 6- Enriquecimento ambiental para camundongos.



Fonte: o autor.

A limpeza das gaiolas acontecia todas as segundas, quartas e sextas-feiras. Quando se tratava das gaiolas dos animais inoculados, era necessário o preenchimento do Controle da Prova Biológica. A lavagem dos materiais seguia uma ordem específica, compreendendo a imersão de microplacas, lâminas, tubos e becker em uma cuba contendo água, hipoclorito de sódio e detergente (“cuba suja”) por 24h. Após esse período, era realizada a lavagem com esponja e detergente neutro, enxágue em água corrente, e por fim, a imersão dos materiais em uma cuba com água deionizada (“cuba limpa”) por 24h. A água das cubas era trocada às segundas e quintas. Para a secagem, os materiais eram levados à estufa por 24h. Posteriormente à secagem, os materiais eram guardados em seus respectivos lugares. Os beckers eram embalados para esterilizar na autoclave.

Figura 7 – Estantes para gaiolas de camundongos inoculados com amostras suspeitas de raiva.



Fonte: o autor.

Todos os materiais empregados no diagnóstico de raiva eram separados e destinados para lavagem no lavatório do setor, pois precisavam ser autoclavados devido ao risco biológico, com exceção das lâminas quadriculadas utilizadas na RID, que por serem fixadas em acetona, inativando o vírus, eram limpas como as demais.

Para a execução dos diagnósticos laboratoriais era utilizada uma solução salina tamponada (SST) para diluição e lavagem das amostras. Para cada técnica empregava-se uma SST com pH específico, sendo eles 7,2, 7,6 e 8,5. O preparo das soluções era feito no laboratório, seguindo o protocolo: em um Becker de 1L, adicionava-se 1L de água de osmose reversa e os sais eram diluídos com o auxílio do agitador magnético. No barrilete, adicionava-se 4L água de osmose reversa e era acrescentada a água com sais, totalizando 5L. Por fim, ajustava-se o pH da solução de acordo com o desejado (7,2, 7,6 ou 8,5) com o auxílio do pHmetro. As quantidades de sais para cada pH estão descritas no Quadro 1, sendo adaptadas para as atividades do laboratório (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Figura 8 – Etapas de preparação da solução salina tamponada.



Fonte: o autor.

Quadro 1 - Quantidade de sais nas soluções salinas tamponadas.

pH 7,2		pH 7,6		pH 8,5	
Sais	Quantidade	Sais	Quantidade	Sais	Quantidade
NaCl	40,915 g	NaCl	34,0 g	K ₂ HPO ₄	5,8 g
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	9,9225 g	Na ₂ HPO ₄	6,64 g	KH ₂ PO ₄	0,453 g
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	1,79 g	KH ₂ PO ₄	0,872 g		

Fonte: Ministério da Saúde (2016).

2.2.1 Diagnóstico laboratorial de raiva

A RID é o teste padrão ouro para diagnóstico da infecção rábica, recomendado pela OMS. A prova consiste na análise microscópica do *imprint* de fragmentos de tecido nervoso ligados a um conjugado espécie-específico e submetidos à luz ultravioleta. O conjugado consiste em antissoro específico ao vírus rábico (anticorpo) marcado com isotiocianato de fluoresceína. Dessa forma, quando o antígeno rábico reage com o conjugado e é exposto à luz ultravioleta, emite uma luz esverdeada fluorescente. O conjugado é diluído previamente de acordo com seu título em suspensão de *Challenge Virus Standard* (CVS) e cérebro normal (CN). O CVS é a suspensão de cérebro de camundongos infectados com uma cepa padrão, enquanto o CN é a suspensão de cérebros de camundongos sadios (KOPROWSKI et al, 1996).

Antes do preparo das lâminas, era imprescindível a utilização de EPIs, dado o alto risco de contaminação. Segundo as recomendações da OMS (2018), deve-se

vestir jaleco com manga longa, calçar duas luvas de procedimento em cada mão, colocar óculos de proteção e máscara (ou *face shield*) e manter os cabelos presos, de preferência utilizando uma touca descartável. Após a paramentação, inicia-se a montagem da bancada para a realização do *imprint*.

A área de trabalho era organizada em cima de uma camada de papel *craft* e uma de papel alumínio (Figura 9). Colocavam-se à esquerda as lâminas quadriculadas (devidamente identificadas com número da amostra, fragmento cerebral e data), papel filtro e palito de madeira. À direita, colocavam-se os instrumentais necessários para abertura do crânio – quando recebido o animal inteiro – e corte das porções cerebrais, como tesouras e pinças, pedaço de algodão embebido por álcool 70% (para limpeza superficial dos instrumentais), tubos tipo *Falcon*, micro tubos tipo *Eppendorf*®, almofariz e pistilo.

Figura 9 – Organização da bancada para diagnóstico de raiva em quiróptero.



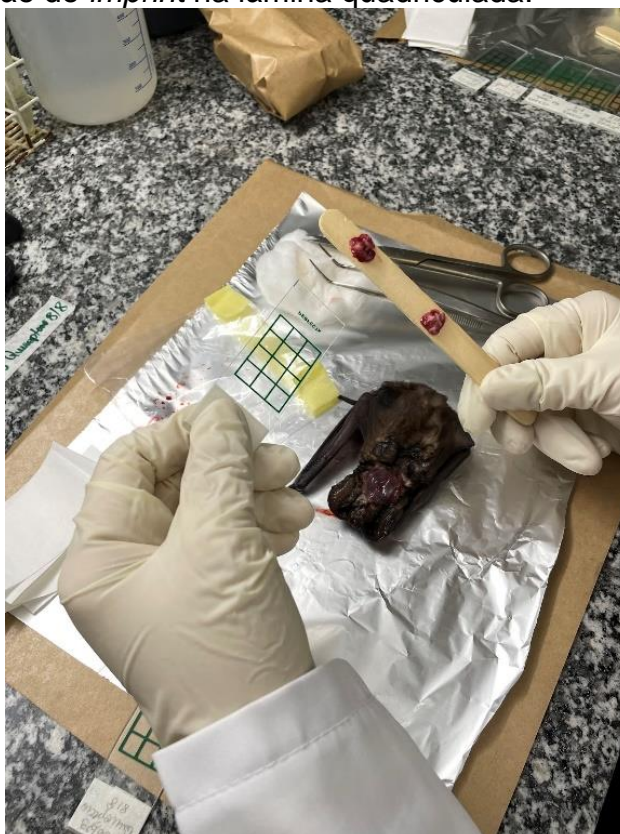
Fonte: o autor.

Para cães, gatos, animais silvestres e herbívoros recomendava-se utilizar córtex, cerebelo e hipocampo. Quando se tratava de equinos, devia-se acrescentar tronco encefálico e medula espinhal, uma vez que estes animais apresentavam os sinais clínicos da raiva paralítica antes do vírus chegar até o sistema nervoso central (SNC). Para quirópteros, fazia-se lâminas sem diferenciação de regiões.

Com o encéfalo exposto, cortava-se cada porção necessária e esta era separada com o auxílio de uma pinça. Então, cada fragmento era colocado,

individualmente, sobre o palito de madeira para facilitar a realização do *imprint* em sua respectiva lâmina (Figura 10). Realizavam-se duas impressões do mesmo material em cada extremidade da lâmina, preenchendo os três quadrados e retirava-se o excesso com o auxílio de papel filtro.

Figura 10 - Realização do *imprint* na lâmina quadriculada.



Fonte: o autor.

Os fragmentos utilizados nas impressões eram reservados no almofariz para posterior realização da PB e o restante do encéfalo era armazenado em tubo tipo Falcon (corretamente identificado) e congelado por até cinco anos, caso fosse necessária outra avaliação.

Com as lâminas prontas, devia-se proceder à fixação do material em acetona, por um período de uma a quatro horas, para inativação viral (Figura 11). Estas eram colocadas em um recipiente de vidro tipo coplin de tamanho suficiente para cobri-las por inteiro. Em seguida, as lâminas eram colocadas em estufa a 37 °C para secarem.

Figura 11 - Lâminas imersas em acetona.



Fonte: o autor.

Após secas, adicionava-se 25 μ L de conjugado em cada extremidade da lâmina, certificando-se que todos os quadrados foram preenchidos. A adição do conjugado e posterior manipulação das lâminas devia ser realizada em ambiente com a luz apagada, a fim de diminuir a degradação da fluoresceína (GOLDMAN, 1960). Após a adição do conjugado, incubavam-se as lâminas a 37°C por 30 minutos em câmara úmida para ocorrer a ligação antígeno-anticorpo. A câmara úmida era composta por um recipiente com tampa, no qual era colocada uma folha de papel toalha umedecida e uma base de madeira que servia como suporte para a lâmina. A câmara devia ficar fechada na estufa durante o tempo determinado.

Em sequência, procediam-se com duas lavagens de cada lâmina com SST pH 8,5 por dez minutos cada, para a retirada das partículas não ligantes, no caso o anticorpo rábico com a molécula de fluoresceína. O recipiente de vidro contendo a solução e lâmina devia ser coberto para impedir a entrada de luz. Após a lavagem, as lâminas passavam pela secagem em estufa a 37°C. Para leitura no microscópio de imunofluorescência, depositava-se uma gota de solução de glicerina tamponada pH 8,5 na lâmina, cobrindo-a, cuidadosamente, com lamínula.

Durante a avaliação, caso a amostra fosse positiva, eram evidenciados, no lado em que se utilizou o conjugado diluído em CN, corpúsculos de Negri fluorescentes. É importante pontuar que o lado contendo conjugado CVS se apresentava negativo

mesmo em amostras positivas, uma vez que não ocorria a ligação dos anticorpos deste conjugado às partículas virais da amostra, pois esses se ligaram previamente às partículas virais da suspensão do CVS. Portanto, o CVS funcionava como controle de marcações inespecíficas, determinando a especificidade da fluorescência e diminuindo o número de resultados falsos positivos.

Outro método diagnóstico acompanhado foi a PB, empregada em conjunto com a RID. O isolamento de patógenos em modelos animais, incluindo a inoculação intracerebral em camundongos para diagnóstico de raiva, tem sido utilizado mundialmente na prática laboratorial, há mais de um século. A PB é uma forma de isolamento viral, que consiste em inocular o macerado de fragmentos cerebrais diluídos em uma solução diretamente no encéfalo de camundongo (KOPROWSKI et al., 1996). Para isso, as porções cerebrais anteriormente descritas e utilizadas na RID eram maceradas no almofariz junto a solução, contendo antibiótico (estreptomicina), soro equino e água deionizada ou solução fisiológica (Figura 12).

Figura 12 - Maceração das porções cerebrais.

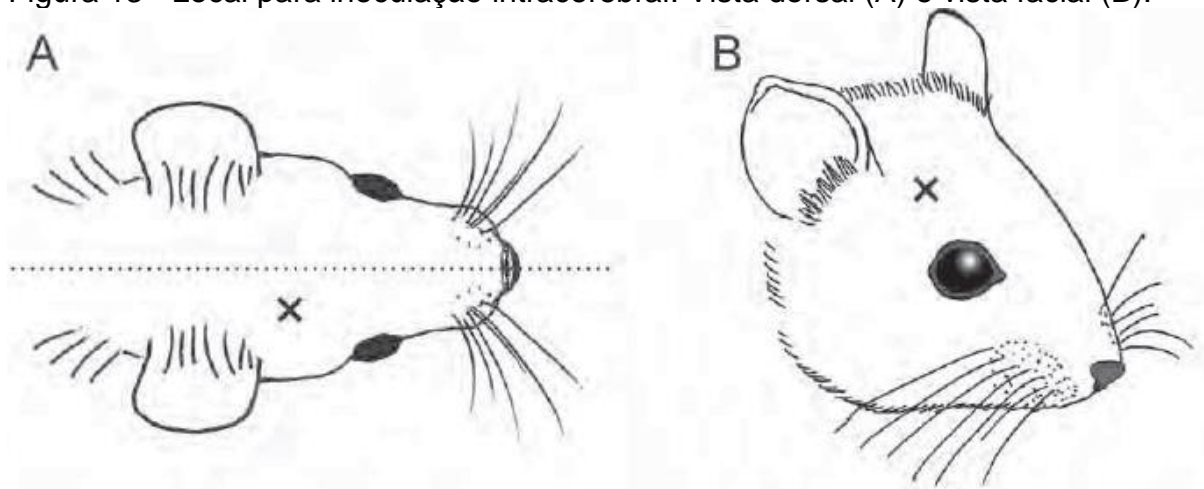


Fonte: o autor.

Após a obtenção de uma papa, o conteúdo resultante era passado para um tubo tipo *Falcon* para centrifugação a 1000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante obtido era transferido para um microtubo tipo *Eppendorf®* e mantido em geladeira por no mínimo uma hora para que ocorresse a ação antibiótica.

Em seguida, aspirava-se 0,03mL em uma seringa de insulina e realizava-se a inoculação via intracerebral em cinco camundongos de 21 dias. A injeção poderia ser aplicada à direita da linha imaginária que divide o crânio do animal, entre a orelha e o olho (Figura 13). O uso de animais mais velhos não é recomendado devido à diminuição da susceptibilidade ao vírus e pelo fato de o crânio ser mais resistente, aumentando a chance de traumas. A OMS preconiza a utilização de agulhas 26G ou 27G, pois agulhas maiores podem causar lesões no tecido nervoso (OMS, 2018).

Figura 13 - Local para inoculação intracerebral. Vista dorsal (A) e vista facial (B).



Fonte: OMS (2018).

Após a inoculação, os animais eram alocados em suas respectivas gaiolas e observados por 30 dias, no caso de material proveniente de herbívoros, destacando-se bovinos, equinos, e quirópteros, e 21 dias no caso de carnívoros, incluindo caninos e felinos.

Para acompanhamento da evolução dos animais inoculados, era empregado o Controle de Prova Biológica (Figura 14). Tratava-se de um formulário que continha a identificação da amostra, data, fonte do vírus (espécie da amostra), via de inoculação, volume aplicado e idade dos camundongos. Além disso, havia um espaço destinado para preenchimento diário do acompanhamento destes animais e dos resultados da RID e PB.

Figura 14 - Controle de Prova Biológica.

LDZ – DHVSP – FMVZ – UNESP																					
DIAGNÓSTICO DE RAIVA: CONTROLE DA PROVA BIOLÓGICA																					
RG LDZ Nº:							DATA:					VÍRUS:									
PASSAGEM:							DILUIÇÃO: 1 / 5					VOLUME: 0,03 ml									
VIA DE INOCULAÇÃO: Intracerebral														IDADE: 21 dias							
ANIMAL: Camundongo																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1																					
2																					
3																					
4																					
5																					
	22	23	24	25	26	27	28	29	30												
											RID: - +										
1																					
2																					
3										PB: - +											
4																					
5																					

Legenda: Linha horizontal: dias do mês. Colunas: representa aleatoriamente cada um dos animais. Em caso de óbito, assinala-se com um "M" (morte) no respectivo dia e animal. Fonte: o autor.

No caso de positividade, os animais apresentam dificuldade para se movimentar, pelo arrepiado, paralisia e iam à óbito. Para a confirmação do resultado, deve-se proceder com a RID do material cerebral dos camundongos que morressem a partir do quarto dia após a inoculação. Anteriormente a esse período, o óbito poderia ser devido a trauma ou infecção bacteriana, sendo que durante o estágio nenhum animal teve complicações após o procedimento. Normalmente, a morte dos animais ocorria entre o sétimo e nono dia pós-inoculação, podendo levar mais tempo no caso de amostras provenientes de equinos. Neste caso, os animais poderiam começar com os sinais clínicos no 18º dia, por isso a necessidade de os observar por 30 dias, já que em herbívoros o período de incubação viral é de 25 a 90 dias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

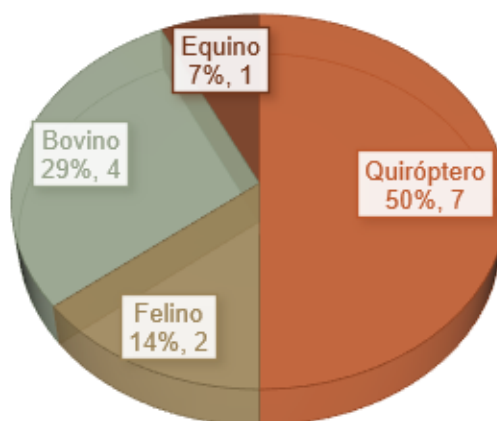
Após o final de cada diagnóstico, os camundongos eram eutanasiados. Durante o período de estágio, o dióxido de carbono (CO₂) era o gás aceito para a eutanásia de pequenos roedores, segundo a *American Veterinary Medical Association* (AVMA). A forma recomendada de administração era a utilização de câmaras apropriadas com

válvulas para controle da entrada de gás, que deveria vir de cilindros de CO₂, uma vez que o fluxo de gás poderia, assim, ser regulado. A administração deveria ser lenta para o animal sofrer o mínimo de estresse devido à dispneia antes da parada cardiorrespiratória. O fluxo ideal de gás no interior da câmara devia deslocar de 30% a 70% do volume da câmara/min.

Ao longo do estágio, foram realizados 14 exames para o diagnóstico, sendo que 100% deles foram negativos, tanto na RID quanto pela PB. A relação de espécies analisadas está ilustrada no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Número de espécies recebidas pelo setor de Diagnóstico de Zoonoses, entre 7 e 25 de agosto de 2023, da UNESP.

NÚMERO DE AMOSTRAS ANALISADAS POR ESPÉCIE



Fonte: o autor.

2.2.2 Diagnóstico laboratorial de leishmaniose

A RIFI é o exame imunológico mais utilizado para diagnóstico da leishmaniose visceral (LV). O resultado é expresso em diluições, considerando positivas as diluições a partir de 1:80 (BRASIL, 2014). Trata-se de um método diagnóstico que consistia na reação do soro do animal suspeito com os parasitas (*Leishmania*), previamente fixados em lâminas multispot. Para revelar a reação, utilizava-se um conjugado espécie-específico fluorescente.

A leitura das lâminas era realizada com auxílio de microscópio de imunofluorescência. Eram considerados reagentes os soros que apresentassem fluorescência completa e intensa e não reagentes os soros sem fluorescência, baseando-se nos soros de controle positivo e negativo, incluídos em cada lâmina.

Antes da realização da prova de RIFI, as residentes sensibilizavam previamente as lâminas, utilizando como antígeno a *L. major*. Para isso, fixava-se o antígeno (10 µl da suspensão de promastigotas), que a seguir era retirada, por aspiração, restando somente fina película em cada orifício. As lâminas secavam em temperatura ambiente e eram posteriormente mantidas em laminário a -20°C até o uso.

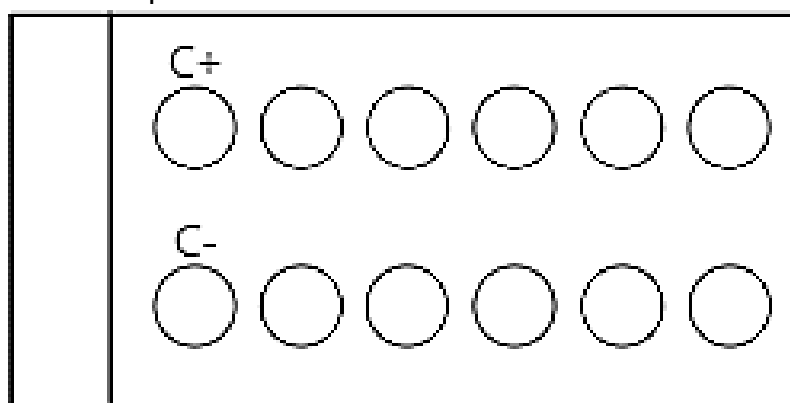
Na realização da RIFI, utilizava-se 0,5 ml de soro não hemolisado ou lipêmico. Para um diagnóstico mais assertivo, considera-se além do resultado do teste os dados clínicos e epidemiológicos do paciente. Todas essas informações, incluindo a identificação do proprietário e requisitante, os dados necessários para comunicação e encaminhamento do resultado e número das amostras encontram-se nos registros do SDZ.

A diluição da amostra examinada era realizada em microplaca, pipetando-se 190 µl de SST e 10 µl de soro na primeira perfuração que correspondia à diluição de 1:20. Após a homogeneização adequada, a partir desta diluição, eram realizadas outras para se conhecer o título dos anticorpos. Pipetava-se 100 µl de SST em outras cinco cavidades e, a partir da primeira diluição, pipetava-se 100 µl para o orifício seguinte e era feita então a homogeneização. Repetia-se esta operação até a quinta cavidade, desprezando 100 µl da cavidade final. Desta forma, obtiam-se diluições de 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 e 1:640.

Para preparação dos controles, empregava-se uma amostra de soro sabidamente positiva (controle positivo) e outra sabidamente negativa (controle negativo). Eram utilizadas duas cavidades para cada controle. Dessa forma, pipetava-se 190 µl de SST e 10 µl de soro no primeiro poço e 100 µl de SST no segundo. Homogeneizava-se o primeiro poço, retirava-se 100 µl e transferia-se para o segundo. Após homogeneizar, descartava-se 100 µl. Este procedimento era realizado para os controles positivo e negativo, sendo utilizado para análise a segunda cavidade, correspondendo a diluição de 1:40, o que equivalia ao título de 40.

Era indicado na lateral da microplaca o número de cada amostra e os controles, para garantir a identificação correta na hora de fazer a passagem para a lâmina. Para facilitar, eram impressos desenhos das lâminas para identificar cada orifício com a respectiva diluição e quais eram os controles (Figura 15).

Figura 15 - Desenho esquemático.



Fonte: o autor.

Após o preparo da microplaca, pipetava-se 10 μ l de cada diluição nos respectivos orifícios das lâminas fixadas com o antígeno. Em seguida estas eram incubadas a 37°C por 30 minutos em câmara úmida (Figura 16) (MAYRINK et al, 1967).

Figura 16 - Lâminas na câmara úmida.



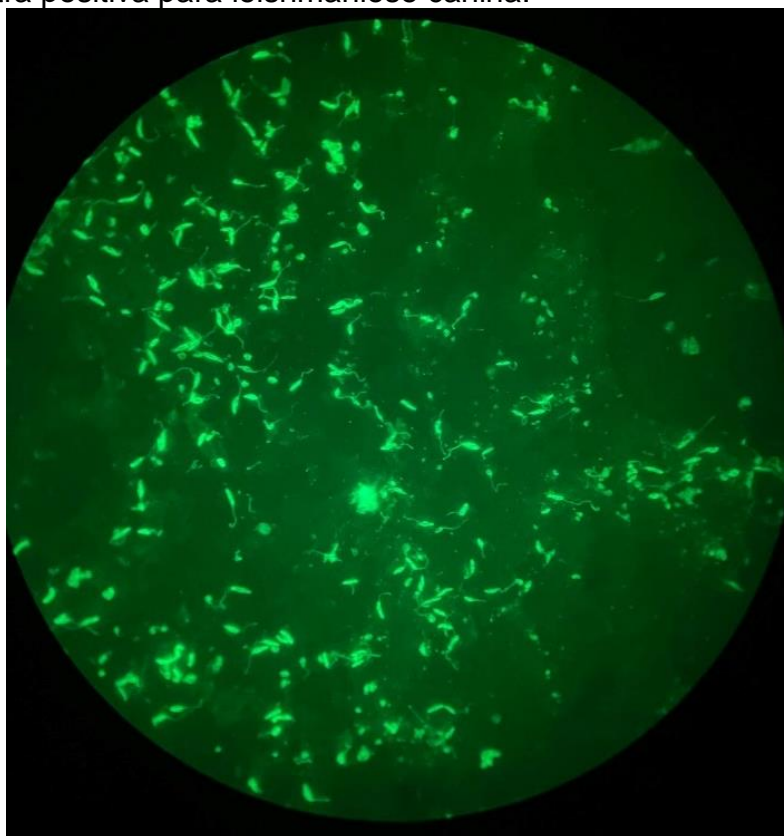
Fonte: o autor.

Após secas, realizam-se duas lavagens com SST pH 7,2 por cinco minutos cada, em frasco tipo coplin, sendo colocadas para secar na estufa. A seguir,

adicionava-se o conjugado, que era diluído conforme o seu título, previamente estabelecido, em solução azul de Evans 20 mg%, a qual devia ser previamente diluída em SST 1:5. O conjugado era então colocado no volume de 10 µl em cada uma das diluições. As lâminas eram incubadas novamente em estufa a 37°C em câmara úmida por 30 minutos. Efetuava-se o mesmo procedimento anteriormente descrito para a lavagem.

Por fim, após a secagem das lâminas em estufa, depositavam-se duas gotas de solução glicerinada pH 8,5 na lâmina, cobrindo-a com lamínula. Procedia-se à leitura com microscópio de imunofluorescência, com objetiva 40X e ocular 10X. Após a leitura dos controles, fazia-se a leitura da amostra em teste, considerando como ponto final da reação a maior diluição do soro em que havia fluorescência intensa e completa de pelo menos 50% das promastigotas (Figura 17).

Figura 17 - Amostra positiva para leishmaniose canina.



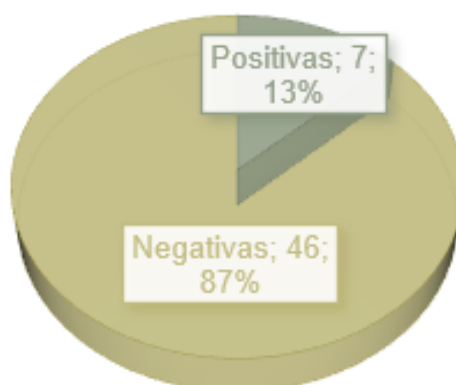
Fonte: o autor.

Durante o período de estágio acompanhado, foram realizados 53 exames para diagnóstico de Leishmaniose Canina, obtendo sete resultados positivos (Gráfico 2). Foram consideradas positivas as amostras com títulos a partir de 40. Assim, os títulos dos pacientes positivos estão representados no Gráfico 3.

Devido à impossibilidade da utilização da localidade de origem de cada amostra, a análise dos dados limita-se aos resultados das titulações. É de se atentar que, mesmo em um curto período, 13% das amostras eram positivas e vinham de cidades próximas à Botucatu. Até 2022, não foram notificados casos de Leishmaniose humana em Botucatu (SINAN, 2022). Porém, a presença da doença em cães é sinal de alerta, uma vez que são os principais reservatórios do protozoário no Brasil, participando da cadeia de transmissão ao serem picados pelo vetor, o mosquito-palha (*Lutzomyia longipalpis*), que posteriormente pode picar humanos (CFMV, 2021).

Gráfico 2 - Resultados dos diagnósticos de Leishmaniose Canina no setor de Diagnóstico de Zoonoses, entre 7 e 25 de agosto de 2023, da UNESP.

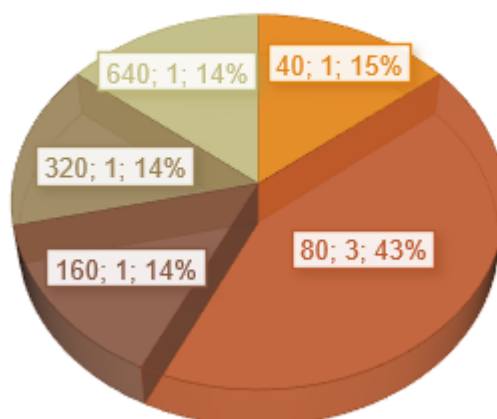
RESULTADOS DOS EXAMES DE LEISHMANIOSE CANINA



Fonte: o autor.

Gráfico 3 - Títulos das amostras positivas para Leishmaniose Canina, processadas no laboratório do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da UNESP, entre 7 e 25 de agosto de 2023.

TÍTULOS DAS AMOSTRAS POSITIVAS PARA LEISHMANIOSE CANINA



Fonte: o autor.

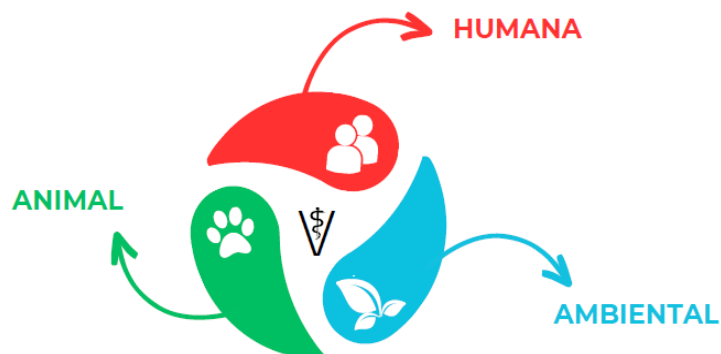
2.3 Atividades no planejamento em saúde animal e saúde pública

A rotina no planejamento iniciava às 8h e encerrava às 18h, de segunda a sexta-feira. Durante o período de estágio, foi possível acompanhar as atividades desenvolvidas pelos dois residentes do setor.

O mês de setembro foi dedicado para a organização da 2ª Ação de Saúde Pública Veterinária, que foi desenvolvida pelos residentes em parceria com a prefeitura de Botucatu e a VAS. A ação fazia parte da disciplina de Planejamento em Saúde Animal e Saúde Pública Veterinária, ministrada ao 8º semestre do curso de Medicina Veterinária da UNESP, como atividade de extensão e avaliativa. Assim, os 54 alunos da turma puderam praticar vacinação, microchipagem e coleta de sangue em cães e gatos. A idealização da campanha teve início em março de 2023, quando foi desenvolvida a logo do evento (Figura 18) e definido o local e a data. A logo foi

idealizada com base na tríade da saúde pública: interação entre animais, pessoas e meio ambiente, com a medicina veterinária no centro como agente unificante.

Figura 18 - Logo da 2ª Ação de Saúde Pública Veterinária.



Fonte: Área de Planejamento em Saúde Animal e Saúde Pública (2023).

Nas semanas anteriores à ação, as atividades do setor foram direcionadas para a organização dos materiais, dentre eles crachás, pastas, panfletos informativos e escala de trabalho dos alunos. Além disso, foi feita a divulgação da campanha através da distribuição de cartazes pelo campus e bairro escolhido (Figura 19). Toda a parte organizacional de suprimentos para o evento foi responsabilidade das estagiárias do setor. O evento ocorreu nos dias 12, 13 e 14 de setembro de 2023, das 9h às 16h, na Praça Edgard Carone, bairro Jardim Continental, em Botucatu (Figura 20), sendo voltado para o atendimento de cães e gatos apenas

Figura 19 - Distribuição de cartazes (A) e o cartaz do evento (B).



Fonte: o autor.

Figura 20 - Local da ação.



Fonte: o autor.

Para melhor direcionamento do público, foram planejadas seis ilhas, sendo elas: cadastro do animal, vacinação contra raiva e microchipagem, cadastro para castração gratuita pela prefeitura, tira-dúvidas sobre saúde animal, prevenção da dengue e escorpiões e colheita de sangue para a pesquisa de leishmaniose, realizada pela Prof^ª. Dra. Marianna Vaz Rodrigues (Figura 21 e Figura 22).

Figura 21 - Ilhas do evento.



Fonte: o autor.

Figura 22 - Ilha de vacinação.



Fonte: o autor.

Ao todo, a equipe da campanha foi composta por 54 alunos, três estagiárias e dois residentes do setor de planejamento, seis agentes da VAS e três médicos veterinários do Canil Municipal de Botucatu. Os alunos, agentes e médicos veterinários foram distribuídos por entre as seis ilhas, de forma que todos os alunos passassem pelas atividades práticas (coleta, vacinação e microchipagem) e teóricas (tira dúvidas e prevenção da dengue e escorpiões).

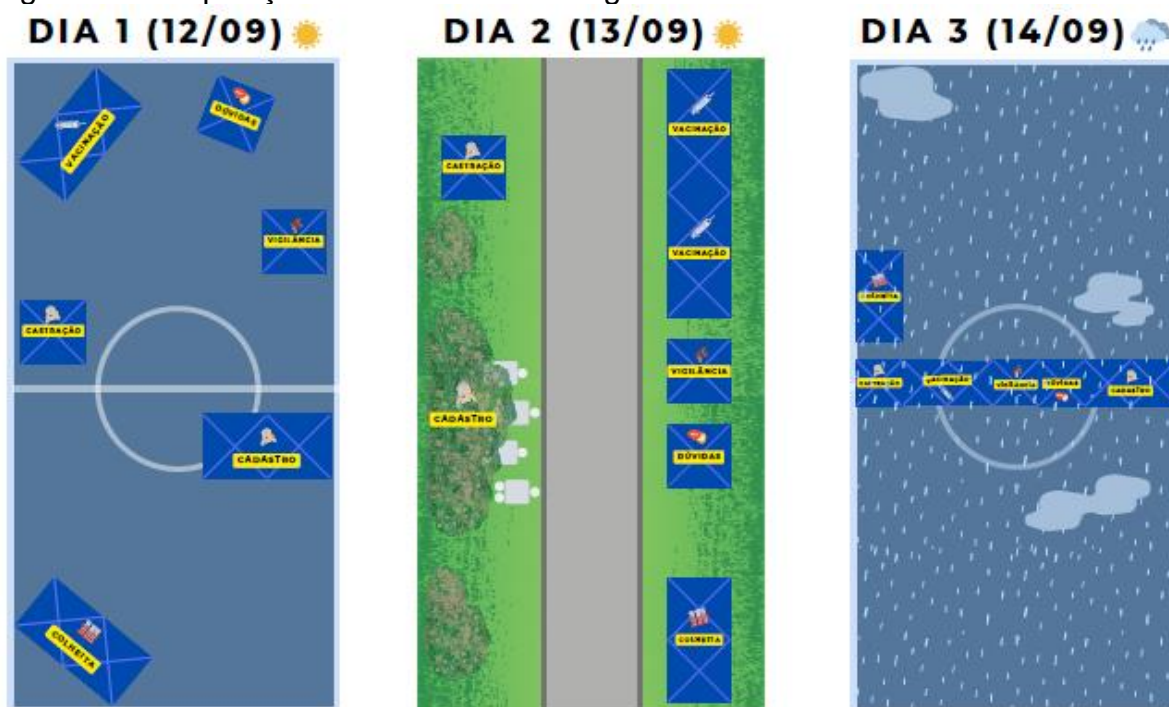
A ilha de prevenção da dengue e acidentes com escorpiões foi montada com materiais da VAS. Foram disponibilizados folhetos informativos sobre acidentes com escorpiões, posse responsável, prevenção de dengue e leishmaniose, raiva e febre maculosa. Além disso, era apresentado para a população uma maquete que indicava as medidas corretas para evitar criadouros de mosquitos (Figura 23). As ilhas foram montadas utilizando barracas, mesas e cadeiras, de acordo com o clima de cada dia, para facilitar o fluxo de pessoas e atendimento dos animais (Figura 24).

Figura 23 - Maquete para orientação de controle de criadouros, Vigilância Ambiental em Saúde.



Fonte: o autor.

Figura 24 - Disposição das barracas ao longo do evento.



Fonte: o autor.

O cadastro dos animais era feito seguindo a ficha de atendimento disponibilizada pela VAS. Dessa forma, era possível identificar o sexo do animal, se era castrado, idade, perfil de mobilidade e situação vacinal. Após o cadastramento, o tutor do animal era direcionado para passar pelas ilhas de tira dúvidas e prevenção até chegar na de vacinação. Para a vacinação era obrigatório que o animal estivesse microchipado, caso contrário, a aplicação do microchip era realizada na hora, no subcutâneo entre as escápulas. Em seguida, caso o tutor tivesse interesse, ele era direcionado para a ilha de cadastro para castração. Por fim, os alunos abordavam os tutores de cães para participarem da pesquisa de rastreamento da leishmaniose, uma vez que cidades próximas eram endêmicas para a doença, como era o caso de Bauru, localizada a menos de 100 km de Botucatu. Bauru estava entre os municípios com maior disseminação dos focos naturais de transmissão e produção de novos casos da LV humana (SILVA; TOLEZANO, 2019).

As vacinas antirrábicas foram disponibilizadas pela VAS de forma gratuita para os tutores e os alunos ficaram encarregados de fazer o controle da temperatura da caixa isolante térmica, que deveria estar entre 2°C e 8°C (REICHMANN et al., 1999).

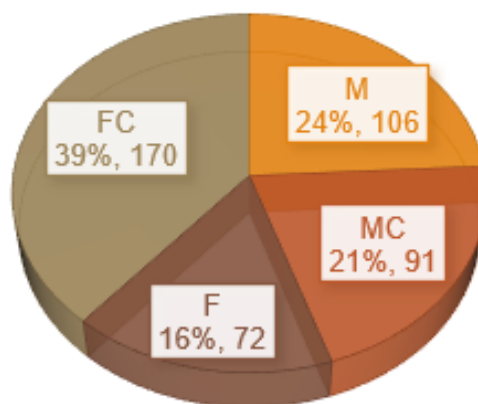
As amostras de sangue coletadas durante o evento ficaram armazenadas em geladeira até a realização dos esfregaços sanguíneos, que aconteceram na semana seguinte à ação. As estagiárias e um residente realizaram 116 esfregaços, que ainda

estavam sendo analisados pela professora responsável pelo projeto até o momento da escrita deste relatório.

A 2ª Ação de Saúde Pública Veterinária foi responsável pela imunização de 559 animais, sendo 439 cães e 120 gatos. Ao final do evento, foi possível delimitar o perfil dos animais vacinados quanto ao sexo, à castração, perfil de mobilidade e situação vacinal. A idade era classificada em: menos de um ano, entre um e cinco anos e mais de cinco anos. O perfil de mobilidade descreve se o animal é domiciliado (D), semi-domiciliado (SD), comunitário (C) e não sabe (NS). Quanto à vacinação, foi determinado se era a primeira dose, segunda dose ou mais ou NS. No Bairro Jardim Continental, 39% dos cães eram fêmeas castradas e 21% eram machos castrados (Gráfico 4). Em relação aos gatos, 43% dos machos eram castrados e 39% das fêmeas eram castradas (Gráfico 5).

Gráfico 4 - Sexo e castração de cães vacinados durante a ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.

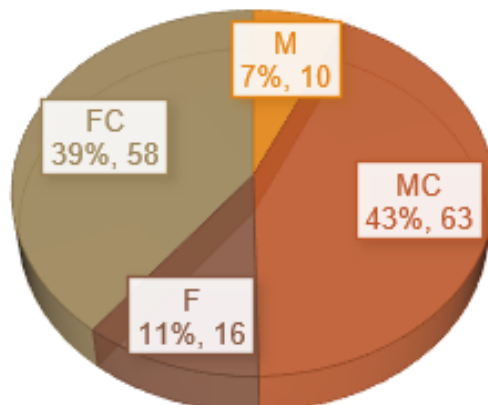
SEXO E CASTRAÇÃO DOS CÃES



Legenda: fêmea castrada (FC), fêmea (F), macho castrado (MC) e macho (M). Fonte: o autor.

Gráfico 5 - Sexo e castração dos gatos vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.

SEXO E CASTRAÇÃO DOS GATOS

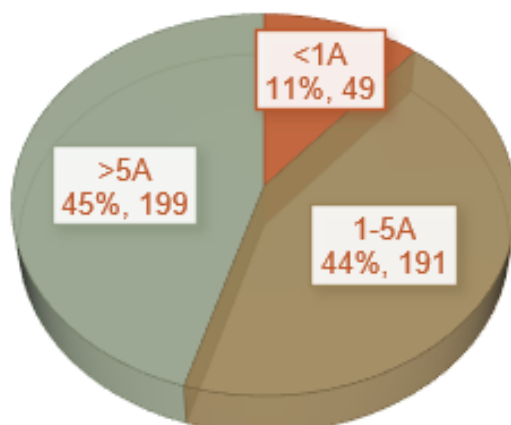


Legenda: fêmea castrada (FC), fêmea (F), macho castrado (MC) e macho (M). Fonte: o autor.

Quanto à idade, 45% dos cães tinham mais de cinco anos (Gráfico 6) e 54% dos gatos tinham entre um e cinco anos (Gráfico 7).

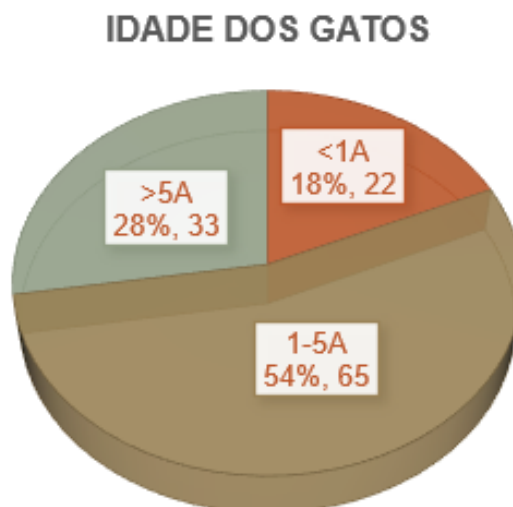
Gráfico 6 - Idade dos cães vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.

IDADE DOS CÃES



Legenda: A: anos. Fonte: o autor.

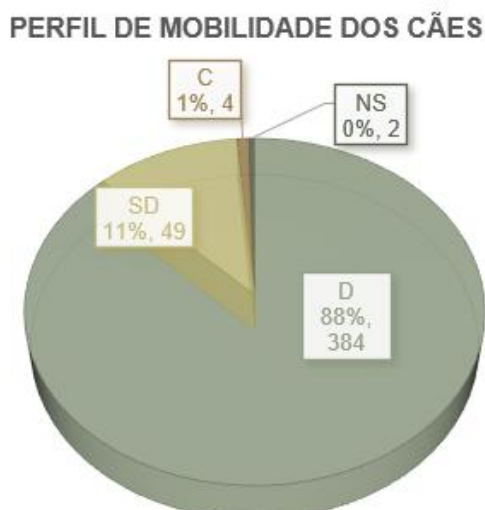
Gráfico 7 - Idade dos gatos vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.



Legenda: A: anos. Fonte: o autor.

Em relação ao perfil de mobilidade, 88% dos cães eram domiciliados, ou seja, ficavam apenas em casa e os passeios eram sob supervisão do tutor e 11% eram semi-domiciliados, o que significa que tinham acesso à rua sem supervisão (Gráfico 8). Os gatos em sua maioria eram domiciliados (61%), sendo 37% semi-domiciliados (Gráfico 9).

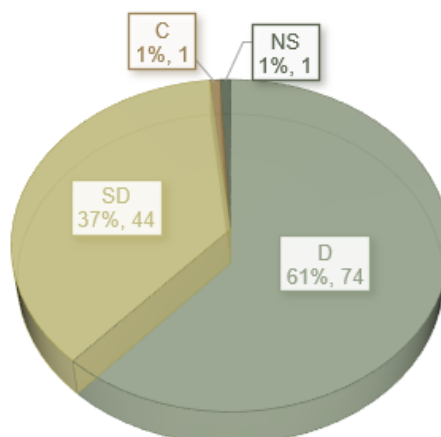
Gráfico 8 - Perfil de mobilidade dos cães vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.



Legenda: C: comunitário; D: domiciliado; NS: não sabe; SD: semi-domiciliado. Fonte: o autor.

Gráfico 9 - Perfil de mobilidade dos gatos vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.

PERFIL DE MOBILIDADE DOS GATOS

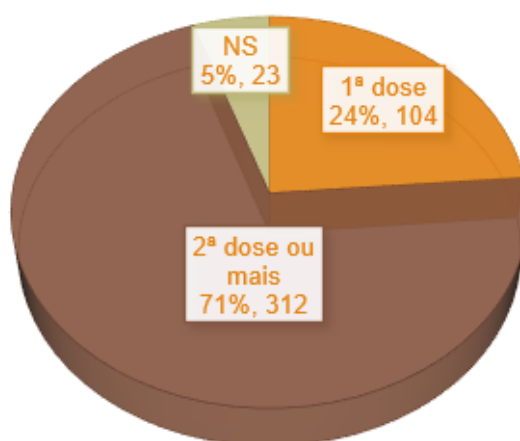


Legenda: C: comunitário; D: domiciliado; NS: não sabe; SD: semi-domiciliado. Fonte: o autor.

Ao analisar a situação vacinal, obteve-se que 71% dos cães e 46% dos gatos já haviam sido vacinados pelo menos uma vez (Gráfico 10 e Gráfico 11)

Gráfico 10 - Situação vacinal dos cães vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.

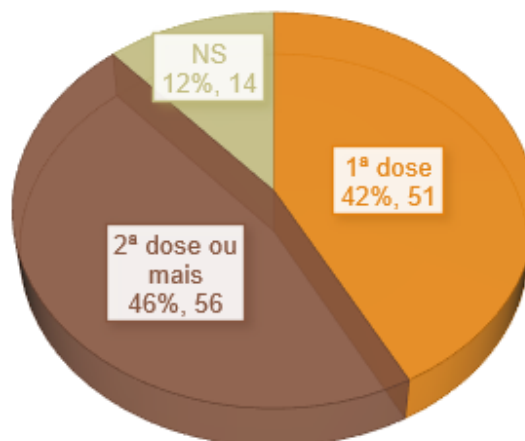
SITUAÇÃO VACINAL DOS CÃES



Legenda: NS: não sabe. Fonte: o autor.

Gráfico 11 - Situação vacinal dos gatos vacinados na ação entre 12 e 14 de setembro de 2023, em Botucatu.

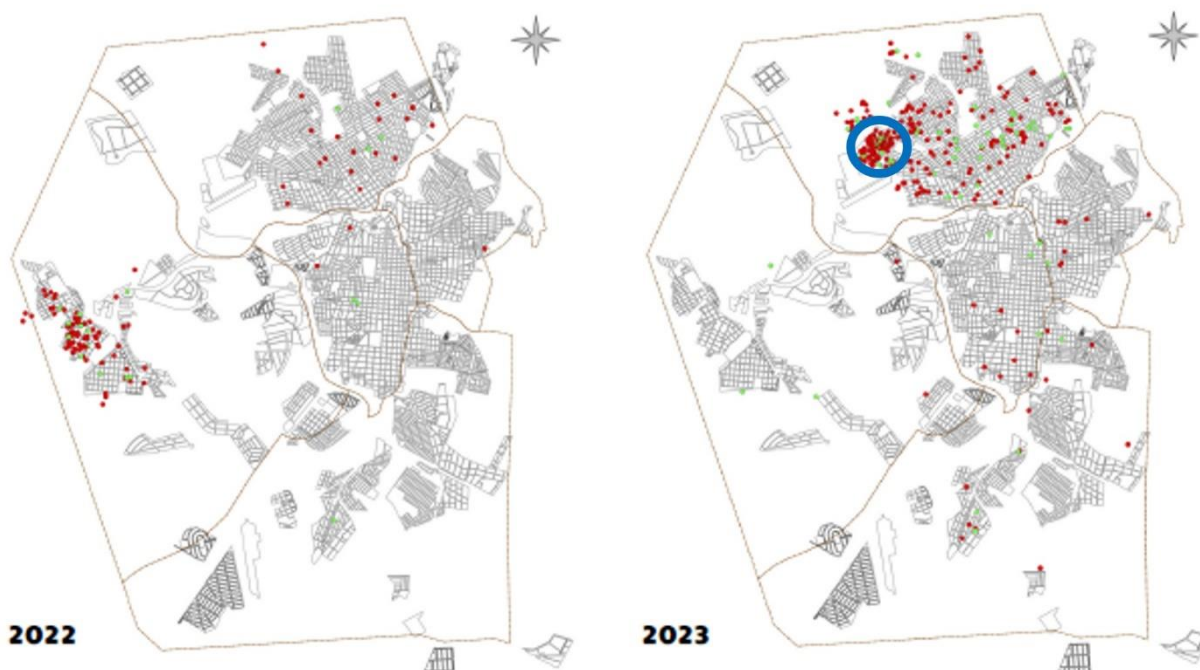
SITUAÇÃO VACINAL DOS GATOS



Legenda: NS: não sabe. Fonte: o autor.

A campanha de 2023 teve como objetivo atender principalmente a população do Bairro Jardim Continental (Figura 25). A meta foi atingida e ainda superou em 121% o número de vacinações realizadas em 2022 na 1ª Ação.

Figura 25 - Mapeamento da origem dos tutores, evidenciando o Bairro Jardim Continental (círculo azul).



Fonte: o autor.

No mês de outubro, as atividades desenvolvidas no setor compreenderam a tabulação de dados da ação, acompanhamento de algumas aulas da disciplina de

Planejamento em Saúde Animal (sobre ranicultura) e reuniões com o professor responsável e os residentes para idealização da ação do próximo ano. Durante as aulas, foi realizada a visita junto aos alunos da disciplina ao Setor de Ranicultura da Fazenda Lageado da UNESP, Campus de Botucatu, para a aplicação de um inquérito de saúde animal das rãs-touro albinas (Figura 26).

Figura 26 – Setor de ranicultura da UNESP Botucatu.



Fonte: o autor.

Além disso, o estágio permitiu a participação das estagiárias na rotina da VAS. No primeiro dia de atividade junto à VAS, foi possível acompanhar um agente de saúde na visita a um ferro velho e uma floricultura da cidade para identificar focos de mosquitos vetores, principalmente os transmissores da dengue (*Aedes aegypti*). As larvas eram coletadas com uma pipeta de Pasteur e armazenadas em tubo de plástico com um pouco de água (Figura 27).

Figura 27 - Coleta (A) e armazenamento (B) de larvas.



Fonte: o autor.

Posteriormente à coleta, as larvas eram colocadas em uma lâmina para identificação da espécie. Tratava-se de larvas de *Aedes aegypti*, que se diferenciavam de outras pelo tamanho do sifão, que era reduzido em comparação ao *Culex*, por exemplo (

Figura 28) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Figura 28 - Sifão da larva de *Aedes aegypti* (círculo vermelho).

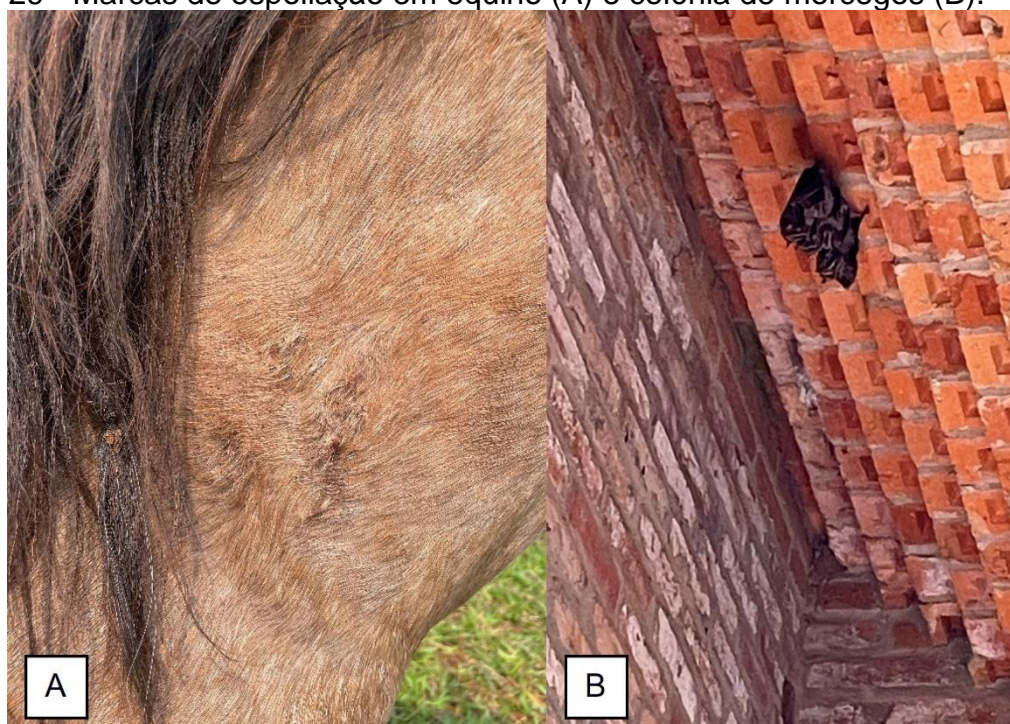


Fonte: o autor.

Ao detectar a forma adulta do mosquito da dengue em um dos estabelecimentos, foi informado ao proprietário do local sobre o foco de larvas e a presença do mosquito. Além disso, foi orientado a eliminar possíveis reservatórios de água, como baldes e pneus.

Na semana seguinte, participou-se de uma visita técnica a um sítio em Botucatu com histórico de dois equinos com espoliação de morcegos, sendo que um deles veio à óbito. Segundo os proprietários do local, o corpo do animal foi descartado sem que tivesse o encéfalo retirado para pesquisar um possível caso de raiva. Foram identificadas as marcas de espoliação no pescoço do outro animal e uma colônia de morcegos no teto de uma das casas, porém aparentavam ser de alguma espécie frugívora (Figura 29). Como medida profilática, os cães e gatos da propriedade foram vacinados contra raiva com a vacina disponibilizada pela VAS.

Figura 29 - Marcas de espoliação em equino (A) e colônia de morcegos (B).



Fonte: o autor.

3 DISCUSSÃO

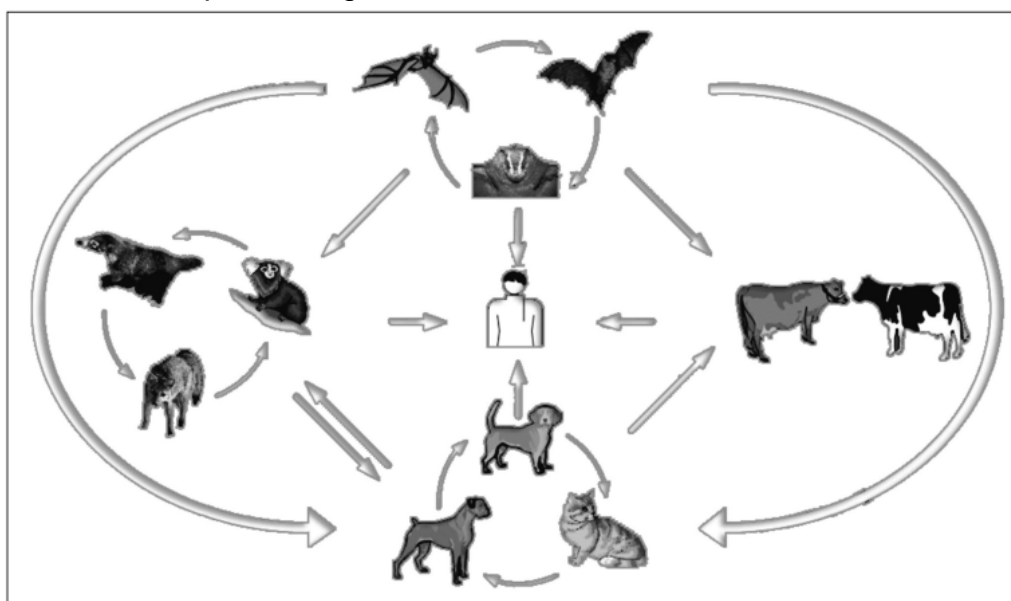
3.1 Raiva e saúde pública

Segundo a OMS, a raiva é uma doença viral de potencial zoonótico, que afeta o SNC, sob a forma de encefalite (BABBONI; MODOLO, 2011). Trata-se de uma doença tropical negligenciada (DTN), que afeta, predominantemente, populações já marginalizadas e vulneráveis. Uma vez que os sintomas iniciam, a mortalidade é de 100% (OMS, 2023).

O agente etiológico em questão é um vírus RNA do gênero *Lyssavirus*, da família Rhabdoviridae. O vírus mantém-se em um hospedeiro principal, podendo ser o cão, gato, homem, os carnívoros selvagens, tendo como reservatório o morcego (BABBONI; MODOLO, 2011). Em mais de 99% dos casos, os cães se apresentam como os maiores responsáveis pela infecção rábica em humanos. A infecção ocorre pelo contato com a saliva do animal, através da mordida e lambedura, arranhaduras ou contato direto com mucosa, como olhos, boca e feridas abertas (OMS, 2023).

A cadeia epidemiológica da raiva pode ser dividida em quatro ciclos, tendo o ser humano vulnerável em todos eles. Os ciclos são: urbano, rural, silvestre terrestre e aéreo (Figura 30) (KOTAIT et al., 2009).

Figura 30 - Cadeia epidemiológica de transmissão da raiva.



Fonte: Instituto Pasteur (2009).

O ciclo urbano envolve cães e gatos como transmissores, sendo os cães domésticos (*Canis canis*) os hospedeiros naturais do ciclo (KOTAIT et al., 2009). O morcego hematófago (*Desmodus rotundus*) é o reservatório principal no ciclo rural e responsável pela transmissão da raiva aos animais domésticos como bovinos, equinos, caprinos, ovinos e suínos. Trata-se de um ciclo que apresenta direto impacto econômico, além de representar um risco à saúde pública, devido à possibilidade de transmissão pelo manejo realizado de animais infectados por médicos veterinários e tratadores (KOTAIT et al., 2009). No ciclo silvestre aéreo, os morcegos ou quirópteros mantêm o vírus rábico, podendo transmitir a doença de um a outro, sendo hematófagos ou não, uma vez que todas as espécies são susceptíveis ao vírus (KOTAIT et al., 2009). Já no ciclo silvestre terrestre, diferentes espécies estão relacionadas à transmissão do antígeno, por conta das distintas variantes antigênicas e genéticas. Entre os carnívoros silvestres há uma alta diversidade de variantes, dependendo do país ou da região (KOTAIT et al., 2009).

Nos humanos, a doença se inicia com sintomas inespecíficos, sendo eles: cefaleia, febre moderada, prurido e/ou parestesia assimétrica (que se inicia ao redor do local da agressão), dor na orofaringe, disfagia, anorexia e náusea. Com a evolução do quadro, os sinais neurológicos se intensificam, devido à replicação do vírus no SNC, causando ansiedade, depressão, insônia, agitação e agressividade (KOTAIT et al., 2009).

Já nos animais, a raiva apresenta a forma furiosa em cães e gatos e parálitica em herbívoros. Na fase prodrômica, que precede o aparecimento dos sinais clínicos, sendo estes inespecíficos, cães e gatos tendem a se esconder em locais escuros e apresentam alterações comportamentais. Após um a três dias, os sinais de excitação se acentuam, tornando o animal agressivo, com tendência a morder objetos, outros animais e pessoas, incluindo o tutor. A salivação torna-se abundante devido a paralisia dos músculos da deglutição. A fase parálitica é caracterizada pelo predomínio de sintomas do tipo paralítico, apresentando uma curta fase de excitação, as vezes imperceptível. A paralisia se inicia pela musculatura da cabeça e do pescoço, resultando na dificuldade de deglutição, podendo ser confundida com uma obstrução. Assim, na tentativa de “desobstruir” o animal, o tutor acaba se expondo ao vírus (KOTAIT et al., 2009). Em herbívoros observa-se mudança de comportamento, anorexia, dificuldade de deglutição e isolamento do rebanho (KOTAIT et al., 2009). Principalmente por se tratar de uma doença sem cura, médicos veterinários,

zootecnistas, estudantes da área e pessoas que trabalham com animais devem estar vacinados contra a raiva de forma preventiva e manter a sorologia atualizada (CRMV/SP, 2023).

O último caso de raiva animal pela variante do cão aconteceu em 1998, no estado de São Paulo (SP). A partir de então, todas as notificações foram causadas por variantes de morcegos. Em 2011, foi registrado o último caso de raiva em felino na cidade de SP. Porém, em 31/08/2023 foi anunciado um caso de raiva canina pelo Instituto Pasteur, que recebeu a amostra para confirmação após a realização da RID e da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Tratava-se da variante do morcego (AgV3) (CRMV/SP, 2023).

Diante do caso, é possível inferir que há a circulação da variante do morcego no estado de SP, por isso é fundamental que seja realizada a vacinação anual de cães e gatos. A aplicação da vacina pode ser feita em postos fixos que a prefeitura mantém, campanhas de vacinação e em clínicas ou hospitais veterinários. É de suma importância que bovinos, equinos, ovinos e caprinos sejam imunizados, uma vez que podem transmitir a doença para humanos (MAPA, 2009). Em abril deste ano, a Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais confirmou um caso de raiva em um homem de 60 anos, que teve contato prévio com um bezerro que apresentava comportamento atípico e excesso de salivação (G1, 2023). Até maio de 2023 este foi o único caso notificado pela Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente no estado de Minas Gerais (SVSA) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

No estado de SP, a vacinação antirrábica é obrigatória em bovinos, bubalinos, ovinos, caprinos e equídeos com vacina do tipo inativada, segundo a Resolução SAA - 29, de 24/09/2001. Além desta, a Lei nº 2.858, de 10 de dezembro de 1954, institui a vacinação antirrábica obrigatória em todo o estado (CRMV/SP, 2023). Em 1973, criou-se o Programa Nacional de Profilaxia da Raiva (PNPR), o qual implementou entre outras ações, a vacinação contra raiva de cães e gatos em todo o Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023). Como resultado, observou-se uma diminuição significativa nos casos de raiva em pequenos animais, permitindo o controle da raiva urbana no país. Em 1999, o país apresentou mais de 1.200 cães positivos para raiva (incluindo em sua maioria as variantes 1 e 2, específicas dessas espécies). Em 2021, registraram 11 casos de raiva em cão, sendo todos estes causados pelas variantes de animais silvestres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

Morcegos insetívoros, frugívoros e nectarívoros são os mais comuns na área urbana, não sendo alvos de controle em saúde pública. Por isso, deverão ser resgatados somente em situação de risco, ou seja, caídos ou pousados em locais não habituais para a espécie. O resgate deve ser feito apenas pelos agentes da VAS, uma vez que o animal pode morder para se defender e acabar transmitindo a raiva (PREFEITURA DE BOTUCATU, 2020). Em 2020, a VAS de Botucatu resgatou 237 morcegos em situação de risco, sendo que 87 foram encaminhados para exame laboratorial e quatro positivaram para a raiva (PREFEITURA DE BOTUCATU, 2020).

A análise do Gráfico 1 permite discutir que a ausência de casos positivos não exclui a necessidade de manter ativa as ações da VAS, sendo elas: captura de morcegos suspeitos, intervenção em casos de acidentes entre morcegos e pessoas ou animais, orientação da população acerca da doença e vacinação dos animais domésticos (PREFEITURA DE BOTUCATU, 2023). É importante ainda que continue o envio rotineiro de amostras suspeitas, a fim de manter atualizado o perfil epidemiológico da cidade. Dado que 50% do material recebido foi proveniente de quirópteros, reforça-se a necessidade de controle desses transmissores, considerando, principalmente, que alguns deles podem entrar em contato com pessoas e outros animais.

3.1.1 Medidas de controle

O Programa de Controle da Raiva, embasado pela OMS, define as seguintes atividades, a fim de estabelecer um sistema de controle eficiente (REICHMANN et al, 1999):

1. Vacinação de cães e gatos;
2. Controle populacional através da castração de cães e gatos;
3. Atendimento de pessoas envolvidas em acidentes com animais;
4. Observação clínica de cães e gatos;
5. Realização do protocolo de pós-exposição em pessoas susceptíveis ao risco da infecção pelo vírus da raiva;
6. Vigilância Epidemiológica, contemplando:
 - a) coleta e envio de material para diagnóstico laboratorial;
 - b) controle de áreas de foco da doença;
7. Educação Permanente em Saúde.

Para o controle dos transmissores, deve-se executar métodos seletivos que atinjam unicamente morcegos hematófagos (*D. rotundus*), a fim de não causar danos a outras espécies. O método seletivo pode ser direto ou indireto. No direto, há a necessidade de captura do animal para a aplicação tópica do vampiricida em seu dorso. Quando outro morcego entra em contato e ingere a pasta, o princípio ativo provoca hemorragia interna, levando a óbito. Pensando nas criações de animais, principalmente na bovinocultura de corte, pode-se empregar o método indireto, que consiste na aplicação de 2,0 g da pasta vampiricida ao redor das espoliações recentes de morcegos hematófagos, uma vez que estes tendem a retornar à mesma lesão para se alimentar em outros dias (MAPA, 2009).

Um ponto de relevância que envolve os transmissores é o estabelecimento de medidas de educação em saúde, com o objetivo de conscientizar a população a evitar contato com morcegos, tanto de pessoas quanto de animais. Em casos de adentramento de morcegos em domicílios, deve-se acionar a VAS para retirar o animal. Além disso, em casos de acidentes, os agentes são responsáveis por orientar acerca dos cuidados de pós-exposição e encaminhar o paciente até uma unidade de saúde para atendimento médico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Ainda nas práticas de educação em saúde, as campanhas de vacinação contra raiva de cães e gatos acabam sendo também um espaço de troca de informação entre a população e os profissionais da saúde, fundamental para a consolidação das medidas de controle da doença. Além disso, pode-se unir a imunização ao incentivo da castração, essencial para o controle populacional e saúde dos animais.

Como exposto nos gráficos Gráfico 4 e Gráfico 5, os bons índices de animais castrados são reflexo dos mutirões de castração gratuita, organizados pela Prefeitura de Botucatu. Em 2022, foram realizadas 7.936 castrações, sendo 3.659 cães e 4.277 gatos. Observou-se ainda um aumento de 420% no número de procedimentos realizados em seis anos (PREFEITURA DE BOTUCATU, 2023). São executados eventos periódicos durante o ano, atendendo diversos bairros. Pode-se também realizar o cadastro do animal a ser castrado no site da Prefeitura. É um serviço que garante, além do controle populacional, a identificação dos animais, uma vez que todos são microchipados antes do procedimento. A microchipagem entra como uma importante ferramenta para identificação animal, considerando que quase 40% dos

gatos tinham acesso à rua, sendo também orientado à população que priorizasse deixar o animal dentro de casa, para evitar acidentes.

Como apontado pelos gráficos Gráfico 10 e Gráfico 11, a maior parte da população animal atendida já havia sido vacinada contra raiva pelo menos uma vez. Isto é resultado dos incentivos da Prefeitura através da VAS para a realização de campanhas de vacinação. Como exemplo, em 2017 a 46ª Campanha de Vacinação Anual de Cães e Gatos Contra a Raiva, nas etapas rural e urbana somaram 22.357 animais imunizados, o equivalente a 70% da população estimada de cães e gatos para Botucatu, segundo o Instituto Pasteur (BOTUCATU ONLINE, 2017).

3.2 Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença infecciosa, de potencial zoonótico, que tem como agente etiológico o protozoário do gênero *Leishmania*. O parasita se multiplica no interior dos macrófagos na forma de promastigota. Há duas formas de leishmaniose: cutânea e visceral. A espécie mais comumente isolada, no território brasileiro, é a *Leishmania infantum* (*syn. chagasi*) e *L. denovani* (BRASIL, 2014). Destaca-se ainda que a LV é uma zoonose de importância mundial, sendo classificada pela OMS como uma DTN.

Como vetores da doença tem-se os flebotomíneos, insetos conhecidos popularmente por mosquito palha. No Brasil, duas espécies estão relacionadas com a transmissão da doença através da picada da fêmea: *Lutzomyia longipalpis* e *L. cruzi* (BRASIL, 2014). Os cães são os principais reservatórios do parasita em área urbana, por conta da proximidade com o homem (DEANE; DEANE, 1955).

Nos cães, a LV pode provocar: lesões cutâneas (descamação e eczema) no espelho nasal e orelha, onicogribose, pequenas úlceras em orelhas, focinho, cauda e articulações e pelo opaco (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Em humanos, o diagnóstico clínico da leishmaniose visceral deve ser considerado quando o paciente apresentar febre e esplenomegalia acompanhado ou não de hepatomegalia. Pode ainda ser observado palidez cutaneomucosa leve, diarreia e/ou tosse não produtiva. É uma doença de notificação compulsória, que apresenta particularidades clínicas de evolução severa, tanto em humanos como em animais, o diagnóstico deve ser precoce e assertivo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Considerando que com o aumento das temperaturas e das chuvas, o ambiente torna-

se favorável para a proliferação do mosquito, as medidas preventivas e de controle do vetor são imprescindíveis.

3.2.2 Controle da doença

Pensando na proteção da população humana, podem-se empregar o uso de telas/mosquiteiros em portas e janelas e repelentes. É importante evitar exposição nos horários do final da tarde, período de maior atividade do mosquito (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Para o controle do vetor, deve-se realizar a limpeza de quintais e terrenos, com o objetivo de eliminar locais favoráveis para a formação de criadouros. Além disso, o uso de inseticidas de ação residual é indicado para a proteção coletiva. Inseticidas como os piretróides podem durar até três meses nas paredes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Com os cães adotam-se medidas de proteção individuais como o uso de coleiras à base de deltametrina 4%, para evitar picadas do flebotômico e a aplicação da vacina anti-leishmaniose visceral canina, em cães sem sinais clínicos e com exames negativos para a doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). A deltametrina, classificada como um piretróide, constitui um inseticida empregado no controle de insetos em várias circunstâncias. Esta substância é responsável por induzir uma despolarização nos gânglios nervosos dos flebotomos, resultando no bloqueio da atividade motora desses insetos. Assim, os efeitos principais da coleira compreendem a paralisia dos vetores, uma propriedade repelente que previne a permanência dos flebotomos no hospedeiro canino e um efeito letal (SILVA, 2017). Maroli et al. (2001) afirmam que, em decorrência desses efeitos sobre os flebotomos, a coleira confere proteção individual, uma vez que impede a alimentação pelo vetor, e coletiva, mediante a indução da morte desses insetos. Manzillo et al. (2006) observaram que o efeito repelente da coleira pode conferir ao animal uma proteção clínica parcial, reduzindo o número de picadas. As vacinas contra leishmaniose canina, Leish-Tec, eram utilizadas para a imunização dos animais, porém, em maio deste ano, o MAPA determinou a suspensão da fabricação e venda do produto, após constatação do desvio de conformidade da vacina, podendo resultar na ineficácia da imunização, gerando risco à saúde humana e animal. Por isso, determinou-se o recolhimento de oito lotes (MAPA, 2023). Até o mês de novembro de 2023, não houve previsão para o retorno do produto ao mercado pet.

Até o ano de 2012, a Resolução do CFMV nº 1.000, de 11 de maio de 2012, determinava a eutanásia de cães positivos para a doença, mesmo que assintomáticos. Porém, em 2016, a Nota Técnica Conjunta nº 001/2016 MAPA/MS, determinou a possibilidade de tratamento do animal portador da doença, desde que seja prescrito por um médico veterinário. No Brasil, a medicação utilizada é a miltefosina, princípio ativo do Milteforan®. O tratamento por 28 dias consecutivos com a miltefosina resulta na diminuição da carga parasitária, melhora dos sinais clínicos, mas sem a cura total da doença. Além disso, um ponto de suma importância no tratamento da LVC é a utilização da coleira com deltametrina 4% e outras medidas de controle, como telas nas janelas, uma vez que o animal continua sendo reservatório do protozoário, mesmo que em baixas cargas parasitárias, e pode ser alvo da picada do mosquito.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, o ECSMV permitiu vivenciar na prática a promoção de saúde pública. Além disso, o contato com os profissionais da área foi fundamental para conhecer novas formas de trabalho, executar diagnósticos e praticar o conhecimento adquirido durante a graduação.

A rotina e casuística do laboratório do SDZ forneceram toda a base teórica e prática das doenças e seus diagnósticos. Além disso, os resultados negativos para raiva reforçam a importância da permanência das medidas de controle, que devem seguir um planejamento adequado para cada município, atingindo os quatro ciclos da doença.

As campanhas de vacinação antirrábica se mostraram boas ferramentas para atender animais e conscientizar tutores sobre zoonoses e saúde animal. Outro ponto de relevância é a aproximação entre os profissionais de saúde e a comunidade. São nestes momentos de troca que se entende as demandas daquela região.

Apesar dos resultados positivos para leishmaniose canina, eles servem para evidenciar a presença da doença nas cidades próximas e redobrar a atenção nas medidas de controle do vetor e de prevenção dos cães e humanos.

REFERÊNCIAS

AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION AVMA. **AVMA guidelines for the euthanasia of animals**. 2020. ed. Illinois: AVMA, 2020. Disponível em: <<https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2023.

ANDRADE, A. et al. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. SciELO Books, 2002. Disponível em:< <https://books.scielo.org/id/sfwjtj/pdf/andrade-9788575413869-47.pdf>>. Acesso em 1 dez. 2023.

BABBONI, S. D.; MODOLO, J. R. Ciências Biológicas e da Saúde. **UNOPAR Científica**, v. 13, n. ESP, p. 349-356, 2011.

BOTUCATU ONLINE. 22 mil cães e gatos vacinados na campanha contra raiva em Botucatu. Botucatu, 2017. Disponível em: <<https://botucatuonline.com/22-mil-caes-e-gatos-vacinados-na-campanha-contra-raiva-em-botucatu/>>. Acesso em: 14 nov. 2023.

BRASIL. Lei nº 5.517, de 23 de outubro de 1968. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, v. 7, n. 119, 25 de out. 1968. Seção 1, p. 9401.

BRASIL. Lei nº 2.858, de 10 de dezembro de 1954. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, SP, n. 273, 12 dez 1954.

BRASIL. Resolução SAA - 29, de 24 de setembro de 2001. **Diário Oficial do Poder Executivo**, São Paulo, SP, v. 111, n. 181, 25 set. 2001. Seção 1.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução nº 831, de 14 de julho de 2006. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 jul. 2006. Seção 1, p. 112.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA – CFMV. Leishmaniose Visceral Canina. Disponível em:<<https://www.cfmv.gov.br/perguntas-e-respostas-sobre-a-leishmaniose-visceral-canina-lvc-questoes-ecnicaselegais/transparencia/perguntas-frequentes/2018/10/26/>>. Acesso em 1 dez. 2023.

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA – CRMV. Áreas de atuação do médico veterinário. Disponível em:< <https://www.cfmv.gov.br/areas-de-atuacao-do-medico-veterinario/medicos-veterinarios/2020/01/29/>>. Acesso em: 19 nov. 2023.

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO – CRMV-SP. Profilaxia pré-exposição contra a raiva para médicos-veterinários e zootecnistas se torna ainda mais importante. São Paulo, 2023. Disponível em:<<https://crmvsp.gov.br/profilaxia-pre-exposicao-contra-a-raiva-para-medicos-veterinarios-e-zootecnistas-se-torna-ainda-mais-importante/>>. Acesso em: 9 nov. 2023.

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO – CRMV-SP. Confirmação de caso de raiva em São Paulo reforça a

importância de manter a vacinação. São Paulo, 2023. Disponível em: <<https://crmvsp.gov.br/confirmacao-de-caso-de-raiva-em-sao-paulo-reforca-a-importancia-de-manter-a-vacinacao/#:~:text=Os%20casos%20de%20raiva%20em,Paulo%2C%20foi%20registrado%20em%201997.>>. Acesso em: 9 nov. 2023.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopes vetulus*) como reservatórios da *Leishmania donovani* em área endêmica da calazar, no Ceará. **O Hospital**, v. 48, p. 61-76, 1955.

G1. Confirmado o caso de raiva humana na cidade de Mantena. Minas Gerais, 2023. Disponível em: <<https://g1.globo.com/mg/vales-mg/noticia/2023/04/26/confirmado-o-caso-de-raiva-humana-na-cidade-de-mantena.ghtml>>. Acesso em: 9 nov. 2023.

GOLDMAN, M. et al. Antigenic analysis of *Entamoeba histolytica* by means of fluorescent antibody. I. Instrumentation for microfluorimetry of stained amebae. **Experimental Parasitology**, v. 9, n. 1, p. 25-36, 1960.

KOPROWSKI, H. et al. **Laboratory techniques in rabies**. 4. ed. Geneva: World Health Organization, 1996.

KOTAIT, I. et al. **Raiva: Aspectos gerais e clínica**. 8. ed. São Paulo: Instituto Pasteur, 2009.

LIMA JR, A. D. **O ensino de saúde pública em medicina veterinária** – Sugestões para um debate profissional do Médico Veterinário que irá atuar nos serviços de saúde coletiva. *Revista CFMV*, ano VII, n. 22, p. 59-60, 2001.

MANZILLO, V. F. et al. Deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis: Evaluation of the protective effect and influence on the clinical outcome of *Leishmania* infection in kennelled stray dogs. **Vet. Parasito I.**, v. 142, n. 1-2, p. 142-145, 2006.

MAROLI, M. et al. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. **Med. Vet. Entomol.**, v. 4, n. 15, p. 358-363, 2001

MAYRINK, W. et al. Fluorescent antibody test in visceral leishmaniasis. I—Sensitivity of the test. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 9, n. 3, p. 172-174, 1967.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA - MAPA. **Controle da raiva dos herbívoros**: manual técnico. 2. ed. Brasília: MAPA, 2009.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA – MAPA. Mapa suspende fabricação e venda e determina o recolhimento de lotes de vacina contra Leishmaniose. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-suspende-fabricacao-e-venda-e-determina-o-recolhimento-de-lotes-de-vacina>>

contra-leishmaniose-apos-fiscalizacao#:~:text=Sa%C3%BAde%20Animal-Mapa%20suspende%20fabrica%C3%A7%C3%A3o%20e%20venda%20e%20determina%20o,lotes%20de%20vacina%20contra%20Leishmaniose&text=O%20Minist%C3%A9rio%20da%20Agricultura%20e,leishmaniose%2C%20a%20Leish%2DTec.>. Acesso em 1 dez. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Saúde Única. Governo Federal. Disponível em:<<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/s/saude-unica>>. Acesso em: 19 nov. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de vigilância em saúde**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Diagnóstico Laboratorial da Raiva**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Dengue**: instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. 3. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonoses**: normas técnicas e operacionais. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Tabela 2: Casos de Raiva Humana por Região Administrativa e Unidades Federadas. Brasil, 2010 a 2023. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Disponível em:<<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/r/raiva/imagens/arquivos-2023/atualizacoes-16-05-2023/tabela-2-casos-de-raiva-humana-por-regiao-administrativa-e-unidades-federadas>>. Acesso em 1 dez. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Raiva. Governo Federal. Disponível em:<<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/r/raiva>>. Acesso em: 12 nov. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE/SVSA. Sistema de Informação de Agravos de Notificação: Sinan Net. Disponível em:<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/leishvbr.def>>. Acesso em: 09 nov. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS. Doenças Tropicais Negligenciadas. 2023. Disponível em:<https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1>. Acesso em: 6 nov. 2023.

PREFEITURA DE BOTUCATU. Vigilância Ambiental em Saúde. Botucatu, 2023. Disponível em:<<https://www.botucatu.sp.gov.br/portal/secretarias-paginas/19/vigilancia-ambiental-em-saude/>>. Acesso em 1 dez. 2023.

PREFEITURA DE BOTUCATU. Castração gratuita de cães e gatos aumentou 420% em 6 anos. Botucatu, 2023. Disponível em:<

<https://www.botucatu.sp.gov.br/portal/noticias/0/3/24295/castracao-gratuita-de-caes-e-gatos-aumentou-420-em-6-anos/>. Acesso em: 14 nov. 2023.

PREFEITURA DE BOTUCATU. Vigilância Ambiental orienta sobre morcegos. Botucatu, 2020. Disponível em: <<https://www.botucatu.sp.gov.br/portal/noticias/0/3/22484/vigilancia-ambiental-orienta-sobre-morcegos>>. Acesso em 15 nov. 2023.

REICHMANN, M. L. A. B. et al. **Vacinação contra a raiva de cães e gatos**. 3. ed. São Paulo: Instituto Pasteur, 1999.

SILVA, S. C. P. F. **Impacto do uso de coleiras impregnadas com Deltametrina 4% na prevenção de Leishmaniose Visceral Canina, no município de Juatuba, Minas Gerais**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Belo Horizonte, 2017.

SILVA, S. B. A.; TOLEZANO, J. E. Epidemiologia e controle da leishmaniose visceral: estudo de coorte de cães em áreas endêmicas no município de Bauru no Estado de São Paulo. BEPA. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 16, n. 190, p. 39–40, 2019. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/BEPA182/article/view/37552>. Acesso em: 8 nov. 2023.

VASCONCELLOS, S. A. **Zoonoses: Conceito**. Disponível em: <http://www.praia grande.sp.gov.br/arquivos/cursos_sesap2/Zoonoses%20Conceito.pdf>. Acesso em 30 nov. 2023.

VELLOSO, M. P. et al. Interdisciplinaridade e formação na área de saúde coletiva. **Trabalho, Educação e Saúde**, v. 14, n. 1, p. 257–271, jan. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Rabies. Geneva, 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rabies>>. Acesso em: 8 out. 2023.

ANEXOS

Anexo 1 – Certificado de conclusão do ECSMV.

Certificado

Certifico que

LUIZA GAZETA PASSOS

Acadêmico(a) do curso MEDICINA VETERINÁRIA da UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA, realizou estágio Curricular, nas áreas de Zoonoses e Saúde Pública e Planejamento de Saúde Animal e Saúde Pública, junto ao Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva, desta Faculdade no período de 07/08/2023 a 27/10/2023 com duração de 450 horas de atividades.
Botucatu, 27 de novembro de 2023.



Professor Titular Antonio Carlos Paes

Chefe do Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva