



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL – CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA DE
PEQUENOS RUMINANTES

Raiva experimental em caprinos inoculados com amostra de vírus isolado de
morcego insetívoro (*Molossus molossus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária de Pequenos Ruminantes da Universidade Federal de Campina Grande, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

FABIANO DA SILVA LIMA

PATOS-PB

2007





UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL – CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA DE
PEQUENOS RUMINANTES

Raiva experimental em caprinos inoculados com amostra de vírus isolado de
morcego insetívoro (*Molossus molossus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária de Pequenos Ruminantes da Universidade Federal de Campina Grande, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

FABIANO DA SILVA LIMA

Dr. Clebert José Alves

Orientador

Dr. Albério Antonio de Barros Gomes

Co-Orientador

PATOS-PB

2007



Biblioteca Setorial do CDSA. Junho de 2022.

Sumé - PB

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CAMPUS DE PATOS - UFCG

L732r
2007

Lima, Fabiano da Silva.

Raiva experimental em caprinos inoculados com amostra de vírus rábico isolado de morcego insetívoro (*Molossus molossus*). / Fabiano da Silva Lima. – Patos. CSTR/UFCG, 2007.

55 p.

Inclui bibliografia.

Orientador: Clebert José Alves.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária de Pequenos Ruminantes) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1 – Doenças Infecto-contagiosas-caprinos – Dissertação. I - Título

CDU: 616.9:636.3(043.3)

Nome: LIMA, Fabiano da Silva

Título: **Raiva experimental em caprinos inoculados com amostra de vírus isolado de morcego insetívoro (*Molossus molossus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária de Pequenos Ruminantes da Universidade Federal de Campina Grande, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Data: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Dr. Clebert José Alves

Assinatura: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Dr. Fumio Honma Ito

Assinatura: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Dr. Franklin Riet-Correa

Assinatura: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Aos meus pais e meus irmãos

A minha querida e saudosa **Vó Nanô** "*in memoriam*".

AGRADECIMENTOS

- » A Deus Todo Poderoso, pela vida maravilhosa que me concedeu.
- » Aos meus pais, Gino e Maria do Céu, que sempre lutaram muito para promover a minha educação e dos meus irmãos, e por nunca terem medido esforços para tornar os nossos sonhos realidade. Tudo que consegui na minha vida foi através dos seus esforços.
- » A todos da minha família, pela confiança e incentivo depositado, em especial a minha Avó Ana Maria (Nanô) *in memoriam*, por toda dedicação, carinho e atenção que sempre teve comigo durante todos os dias da minha vida.
- » Ao meu orientador, Dr. Albério Antônio de Barros Gomes, que idealizou e me orientou na realização de mais um trabalho, por sua contribuição determinante na minha formação profissional, pela paciência, compreensão, generosidade e amizade construída, por seus ensinamentos, não só na vida acadêmica, mas por toda minha existência, tornando-se mais que um mestre, um amigo, um exemplo a ser seguido.
- » Ao Professor Dr. Clebert José Alves, por todo o apoio, amizade sincera, ensinamentos, colaboração, incentivo e constante estímulo à realização do trabalho.
- » Aos meus amigos e grandes colaboradores Luana, George, João Ricardo e Gustavo, pelo carinho, amizade, companheirismo, paciência e empenho durante todo o desenrolar do experimento, sem vocês não seria possível à concretização desse sonho.
- » A amiga Juliana pelo carinho, amizade e grande ajuda desde a necropsia dos animais à realização da histopatologia.
- » Aos meus amigos de república: George, Gustavo, João Ricardo, Flávio, Erisson e Pirajá pela convivência harmoniosa e amizade construída no decorrer do curso.
- » Aos amigos Othon e Ana Raquel, e claro a minha querida sobrinha Livinha, por todo o apoio, colaboração, incentivo, pela ajuda mútua, pela harmoniosa convivência, ensinamentos e amizade sincera.

- » A todos os colegas do programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.
- » Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do CSTR.
- » A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

“Não podemos voltar atrás e fazer um novo começo, mas podemos recomeçar e fazer um novo fim”.

A todos muito obrigado!

*“O homem é assombrado pela vastidão da eternidade,
então perguntamos a nós mesmos, irão nossos atos ecoar através dos séculos,
estranhos ouvirão nossos nomes muito tempo depois de termos partido,
e imaginarão quem fomos, o quanto lutamos bravamente,
o quanto amamos intensamente”*

Fabiano Lima

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA	10
Abstract	11
Resumo	11
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II - TRABALHO ENVIADO À PESQUISA VETERINÁRIA	
BRASILEIRA	31
Abstract	32
Resumo	33
INTRODUÇÃO	34
MATERIAIS E MÉTODOS	37
Animais	37
Vírus	37
Titulação do Vírus	38
Imunofluorescência Direta (IFD)	38
Inoculação Intracerebral em Camundongos (ICC)	38
Histopatologia	38
RESULTADOS.....	39
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS	46
CONCLUSÕES.....	55

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** Frequência dos diferentes sinais clínicos observados em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcego insetívoro (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007 52
- Quadro 2** Presença de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos no SNC, detectados através da Imunofluorescência Direta em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcego insetívoro (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007 53
- Quadro 3** Confirmação através da Inoculação Intracerebral em Camundongos em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcego insetívoro (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007 53
- Quadro 4** Intensidade dos sinais clínicos de raiva referentes a diferentes regiões do SNC em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcego insetívoro (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007 54
- Quadro 5** Distribuição e intensidade das lesões inflamatórias dos casos de raiva em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcego insetívoro (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007 54

O presente trabalho foi formatado segundo as normas da **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, de acordo com o que estabelece a Norma N° 01/2007 de 09 de abril de 2007, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária em Pequenos Ruminantes da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural – Campus de Patos-PB.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

Raiva¹

Fabiano da Silva Lima², Albério Antonio de B. Gomes³, Clebert José Alves⁴, Maria Luana C. R. Silva⁵, George Alberto S. de Andrade⁵, Gustavo B. Solano⁵, João Ricardo B. Araújo⁵

ABSTRACT.- Lima F.S., Gomes A.A.B., Alves C.J., Silva M.L.C., Andrade G.A.S., Solano G.B., Araújo J.R.B. 2007. [Rabies]. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB 58700-000, Brazil. E-mail: alberiogomes@bol.com.br

Rabies is one infirmity caused by the neurotropic virus of the *Rhabdoviridae* family and *Lyssavirus* genus. All the mammals, included man, are susceptibles. It is one of the most important infectious diseases in Brazil and in the world, because it causes the death of 842,688 cattle a year, and also due to its Public Health importance. This paper reviews the epidemiologic aspects of the disease in Brazil, and its clinical signs and pathology in cattle, sheep, and goats, giving emphasis on the bats in the rabies transmission chain.

INDEX TERMS: Rabies, bats, caprines, ovines, epidemiology.

RESUMO.- A raiva é uma enfermidade causada por um vírus neurotrópico da família *Rhabdoviridae* e do gênero *Lyssavirus*. Todos os mamíferos, inclusive o homem, são susceptíveis. É uma das doenças infecciosas mais importantes do Brasil e do mundo, tanto pelos prejuízos causados à pecuária, quanto pela sua importância para a Saúde Pública. Estima-se que morrem aproximadamente 842.688 bovinos anualmente no País. Nesta revisão se descrevem as principais características epidemiológicas, sinais clínicos e patologia da raiva em bovinos, ovinos e caprinos, enfatizando o papel dos morcegos na cadeia de transmissão da raiva.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Raiva, morcegos, caprinos, ovinos, epidemiologia.

A raiva é uma zoonose que acomete todos os mamíferos e causa uma encefalomielite aguda e fatal, conhecida e temida desde a Antiguidade porque os sintomas agonizantes, semelhantes

¹ Recebido para publicação em.....

² Aluno do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária de Pequenos Ruminantes, Universidade Federal de Campina Grande.

³ Professor Adjunto do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, Patos, PB, 58700-000. Brasil. E-mail: alberiogomes@bol.com.br

⁴ Professor Associado do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande.

⁵ Aluno do Curso de Medicina Veterinária, UFCG/CSTR, Campus de Patos, PB.

para o homem e animais, invariavelmente levam à morte (Steele 1975). Observada no Egito antes do ano 2300 a.C. e na Antiga Grécia, descrita claramente por Aristóteles como uma enfermidade contagiosa, causada pela mordedura de cães “hidrófobos”. Os gregos a chamavam de *lyssa* ou *litta* que significa loucura e a palavra sânscrita *rabhas*, fazer violência (Steele & Fernandes 1991). Demócrito foi provavelmente o primeiro a descrever a raiva em cães por volta de 500 d.C., mas foi Celsius quem descreveu a doença em seres humanos, no primeiro século da era cristã, enfatizando o perigo da mordida de animais doentes de raiva para o homem e outros animais (Fenner et al. 1992).

Os estudos de Pasteur, entre 1884 e 1888, trouxeram o início da pesquisa em bases mais modernas, penetrando no terreno da imunidade. Com passagens seriadas em cérebros de coelhos, Pasteur conseguiu que o vírus ficasse com um curto período de incubação estável e o denominou de “vírus fixo”, para distinguir do vírus de rua, encontrado na natureza. E antes mesmo que se começasse a compreender a natureza dos vírus, Pasteur e colaboradores, em 1884, desenvolveram uma vacina contra a raiva, e em 1889, são realizados os primeiros estudos com soros anti-rábicos (Steele 1975, Wilkinson 1988). Desde então, em particular nos últimos trinta anos, consideráveis avanços têm sido feitos, no que diz respeito aos conhecimentos da natureza do agente infeccioso, seu modo de transmissão e mecanismos patogênicos (Campbell & Charlton 1988).

O agente etiológico da raiva pertence à ordem *Mononegavirales* e à família *Rhabdoviridae*, a qual compreendem mais de 100 vírus (Fenner et al. 1992) de vertebrados, invertebrados e vegetais, cujos membros possuem morfologia característica em forma de bala de revólver. Pertence ao gênero *Lyssavirus* e apresenta diâmetro e comprimento aproximados de 75 nm e 180 nm, respectivamente, (Kaplan et al. 1986, Tordo & Poch 1988). É composto por um envoltório formado por uma dupla membrana fosfolipídica na qual são implantadas espículas de composição glicoprotéica, responsáveis pela formação dos anticorpos neutralizantes. Esta membrana envolve o nucleocápside de conformação helicoidal, composto por um filamento único de RNA negativo e não segmentado (Tordo & Poch 1988, Fenner et al. 1992). Estudos bioquímicos demonstraram que o vírus rábico é composto estruturalmente por cinco proteínas além do RNA: uma polimerase RNA-dependente (proteína L) que é responsável pela transcrição e replicação do RNA viral, uma nucleoproteína (proteína N) estreitamente associada ao RNA viral, uma fosfoproteína (proteína NS) – estas três proteínas (L, N, NS) associadas ao RNA viral, constituem o nucleocápside – uma proteína matriz (proteína M) sobreposta a dupla membrana fosfolipídica e uma glicoproteína de superfície (proteína G) que está inserida na membrana lipídica do vírus e é responsável pela indução dos

anticorpos neutralizantes e pelo estímulo aos linfócitos T (Bourhy et al. 1990, Smith 1996, Tordo 1996).

O uso de anticorpos monoclonais (MABs), os progressos da engenharia genética, da biologia molecular e estudos de receptores celulares já modificaram os velhos conceitos relacionados aos “vírus de rua” (Charlton 1988), permitindo tipificar as amostras de vírus. Nos últimos tempos, foram descritas muitas variantes antigênicas do vírus da raiva (Sureau et al. 1983, Smith & Baer 1988, Bernardi et al. 2005, Shoji et al. 2006), levando os pesquisadores a continuarem buscando respostas para inúmeros pontos que ainda permanecem obscuros, dentre os quais, período de incubação, localização viral, resposta à vacinas comerciais, adaptação viral.

A partir do emprego de anticorpos monoclonais (Wiktor & Koprowski 1978) foram reconhecidos distintos sorotipos de vírus rábico, e atualmente se reconhecem sete genótipos, baseados em suas características genômicas. São eles: Genótipo I (GT1), compreende a amostra clássica de vírus da raiva, dentre as quais as cepas de “vírus de rua”, isoladas de animais domésticos e silvestres, como as amostras vacinais; Genótipo II (GT2) “Lagos Bat virus”, procedente de morcegos frugívoros *Eidolon helvum* de Lagos na África; Genótipo III (GT3), “Mokola virus”, isolada do mussaranho (*Crocidura sp.*), na província de Ibadan, Nigéria, e posteriormente do homem, cães, gatos e roedores, também restrito à África; Genótipo IV (GT4), “Duvenhage virus”, isolados do homem e morcegos insetívoros *Nycterus thebaica*, também encontrado no continente africano; Genótipo V (GT5), “European Bat Lyssavirus 1” ou EBL1, isolado da espécie *Eptesicus serotinus*; Genótipo VI (GT6), “European Bat Lyssavirus 2” ou EBL2, isolado das espécies *Myotis dasycneme* e *Myotis daubentonii*; e o Genótipo VII (GT7), “Australian Bat Lyssavirus” ou ABL na Austrália (Alvarez & Ruiz 1998, Bourhy et al. 1993, Bourhy et al. 1995, Gould et al. 1998). Arai et al. (2003) propuseram a inclusão de um novo genótipo, denominado “Aravan vírus”, que foi isolado de um morcego insetívoro *Myotis blythi*, no Quirguistão, Ásia Central, este novo genótipo apresenta características filogenéticas mais próximas às dos genótipos EBL 1 e EBL 2.

A forma de transmissão mais comum é a direta, onde o animal raivoso através da mordedura, arranhadura e/ou lambadura de pele, deposita saliva contendo vírus rábico em animais saudáveis ou em seres humanos. Indiretamente, a transmissão pode ocorrer através da contaminação de feridas recentes com saliva ou materiais infectados, também pode ocorrer à contaminação das mucosas ocular, nasal e oral. Thongcharoen (1981) relata que pela via digestiva a infecção já foi obtida experimentalmente. Em humanos foi reportada a transmissão

em pacientes que receberam transplante de córnea infectada. Outras formas de transmissão são raras, como inalação de vírus devido à formação de aerossol, ocorrida em pessoas que entram em cavernas densamente povoadas por morcegos infectados ou em laboratórios, por acidente (Braund et al. 1987, Jubb et al. 1993).

Após a infecção o vírus se replica nos miócitos próximos ao local da inoculação, invade as terminações neuromusculares e neurotendinosas e dissemina-se para os gânglios paravertebrais. Essa disseminação pode ser rápida ou demorar meses, dependendo da quantidade de vírus transmitida, do local da inoculação, da natureza da ferida e da amostra envolvida. O vírus migra via movimento centrípeto passivo através do axoplasma dos nervos periféricos até o sistema nervoso central (SNC), e então migra de forma centrífuga para os nervos periféricos novamente (Fernandes 2003), podendo participar nervos sensoriais, motores e autônomos (Baer 1975, Charlton 1988, Fenner et al. 1992). Dessa forma, em casos fatais o vírus pode ser encontrado no SNC, sistema nervoso periférico (SNP) e nos demais tecidos. Ele também tem afinidade pelas glândulas salivares, replicando-se nos ácinos e sendo eliminado junto com a saliva através dos ductos. Charlton et al. (1984) relataram diferentes títulos virais ao estudar glândulas salivares e a mucosa nasal de cagambás (*Mephitis mephitis*) naturalmente infectados com o vírus rábico. Os títulos foram altos nas glândulas submandibulares, moderado nas parótidas e baixo nas sublinguais. Baltazar et al. (1992) encontraram títulos elevados ao analisarem glândulas salivares parótidas de ovinos experimentalmente infectados com amostra oriunda de cães.

O período de incubação é bastante variável, sendo mais comum o período entre 30 a 90 dias após a infecção. No entanto, existem casos registrados que apresentaram período de incubação de poucos dias, e outros de até mais de um ano. Esse período de incubação varia em função da quantidade de vírus que penetrou no animal, do tipo de vírus, do local de penetração e da área da mordedura (Nilsson et al. 1968, Mori et al. 2005) e da adaptação das amostras ao sistema biológico utilizado (Germano et al. 1988).

Os animais acometidos de raiva, sem distinção quanto à espécie, exibem sinais típicos de distúrbios do SNC, com variações entre as espécies, dentre eles, os sinais mais confiáveis são alterações comportamentais e paralisia inexplicada. As alterações comportamentais podem compreender anorexia, sinais de apreensão ou nervosismo, irritabilidade e hiperexcitabilidade, incluindo priapismo, também podem ocorrer alterações na fonação e no temperamento, desenvolvendo agressividade não característica, além de alterações na marcha, como ataxia (Clark 2001).

Classicamente, o curso clínico da raiva apresenta três fases, no entanto, essa divisão tem valor prático limitado, devido à variabilidade de sinais e exacerbação ou omissão de algumas fases. A fase, denominada prodrômica, geralmente é a mais curta, com duração de 1 a 3 dias, onde os animais exibem sinais vagos no SNC, podendo haver mudanças de conduta; na fase excitatória há sinais exacerbados de hiperexcitabilidade e agressividade; e a fase paralítica, que geralmente segue a anterior e cursa com paralisia progressiva (Fernandes 2003).

De acordo com a variabilidade dos sinais clínicos, a raiva pode cursar com a forma furiosa ou paralítica. A forma furiosa também conhecida como “síndrome do cachorro louco”, é a forma mais comum entre os carnívoros, embora possa ocorrer em todas as espécies. Há exacerbação da agressividade, hiperexcitabilidade, o animal apresenta comportamento destrutivo contra animais, seres humanos e objetos inanimados. É caracterizada também por inquietação, andar sem rumo, sialorréia, alterações na fonação e convulsões (Clark 2001). A forma paralítica, que freqüentemente acomete os herbívoros, é caracterizada por paralisia mandibular e da língua, em geral, com salivação abundante e incapacidade de deglutir, e/ou paralisia ou paresia espinhal ascendente, que se manifesta com paresia do trem posterior e flacidez da cauda, a paralisia progride de forma rápida, para todas as partes do corpo, e seguem-se o estado de coma e morte em poucas horas. Os animais doentes se isolam e podem apresentar midríase, sonolência, depressão, pêlo eriçado, lacrimejamento, incoordenação muscular, contrações tônico-clônicas de músculos do tronco e extremidades, parada ruminal, decúbito lateral e morte (Braund et al. 1987).

As alterações patológicas de importância na raiva se restringem à microscopia, embora achados como ferimentos, mutilação, pneumonia por aspiração e corpos estranhos no estômago, sejam indicativos da doença (Riet-Correa et al. 1983, Swanepoel 1994, Fernandes 2003, Mori et al. 2004, Lemos 2005). Achados histopatológicos são variáveis e incluem encefalomielite não supurativa, multifocal, moderada com ganglioneurite e meningite cranio-espinhal. Nos herbívoros as lesões são mais proeminentes no tronco encefálico, cerebelo e medula espinhal (Langohr et al. 2003), hipocampo e gânglios trigeminiais (Jones et al. 2000, Lima et al. 2005), já nos carnívoros as lesões são observadas, principalmente no tronco encefálico e hipocampo, podendo disseminar-se para a medula (Fernandes 2003). Observa-se infiltrado mononuclear, manguitos perivasculares de linfócitos e raras células polimorfonucleares, focos linfocíticos e proliferação glial difusa, que inicialmente é microglial e, posteriormente, astrocitária (Storts 1998, Fernandes 2003). A lesão patognomônica da raiva é a presença dos corpúsculos de Negri, que são corpúsculos de inclusão viral, intracitoplasmáticos – encontrados no corpo celular ou nos dendritos, redondos

a ovais, com 0,25-0,27 μ m, eosinofílicos, individuais ou múltiplos, que ocorrem em todas as espécies animais. Podem ser encontrados em diferentes áreas no SNC, embora seja convencionalizado que eles são mais freqüentes nas células piramidais do hipocampo dos carnívoros e nas células de Purkinje do cerebelo dos herbívoros, mas podem ser encontrados em qualquer outra região do SNC. Essas inclusões também podem ocorrer em neurônios de gânglios nervosos, glândulas salivares, língua e outros órgãos. A freqüência de aparecimento de corpúsculos de Negri parece ser inversamente proporcional ao grau de inflamação. Sua presença e concentração dependem amplamente do estágio e curso da doença e da cepa e concentração do vírus (Braund et al. 1987, Jubb et al. 1993, Storts 1998).

A raiva é uma doença viral bem sucedida, pois, tem persistido ao longo do tempo e do espaço, atingindo uma distribuição mundial em uma grande variedade de espécies de animais domésticos e silvestres, que podem atuar como reservatórios por longos períodos. As diferentes espécies apresentam graus variáveis de suscetibilidade, devendo-se destacar entre os mamíferos silvestres, a ocorrência em animais da ordem Chiroptera, já que os morcegos desempenham o papel de principais vetores nas Américas (Acha & Szyfres 1986), apresentando-se como o segundo transmissor de raiva humana no Brasil, desde 1988, (Ministério da Saúde 1996), embora os dados não especifiquem quais os tipos de morcegos transmissores e como o principal transmissor da raiva para os herbívoros (Ministério da Saúde 2005). No ciclo da raiva silvestre tanto morcegos hematófagos como frugívoros e insetívoros podem atuar como reservatórios e/ou transmissores (Braund et al. 1987, Jubb et al. 1993), embora constituam modos diferenciados de transmissão (Ministério da Saúde 1996). Portanto, quando se pensa em controlar a raiva, é muito importante conhecer os mecanismos através dos quais a doença persiste nos mais diferentes ecossistemas (Pastoret et al. 1989).

Em geral, deve-se suspeitar de raiva em animais silvestres que agem de modo anormal, por exemplo, morcegos vistos voando no período diurno, descansando no solo, atacando pessoas e animais, apresentando incoordenação dos movimentos, contrações musculares e/ou paralisia (Ministério da Saúde 1996).

A raiva silvestre se mantém na natureza de forma similar a raiva urbana, onde uma ou mais espécies de mamíferos dentro de um determinado ecossistema se encarregam de perpetuar o vírus rábico (Pastoret et al. 1989). As epidemias e endemias dependem, sobretudo da dinâmica da população. Quando a densidade populacional é alta, a raiva adquire proporções epidêmicas e morrem um grande número de animais. O contrário ocorre quando a densidade é baixa e a doença pode apresentar-se de forma endêmica, ou com o tempo desaparecer em uma determinada área. Na medida em que surge uma nova geração de

susceptíveis, ocorrem novos focos epidêmicos (Instituto Pasteur 2001). A partir de um foco primário, a raiva silvestre propaga-se de 20 a 60 km por ano. Isso se deve em grande parte aos morcegos e aos canídeos selvagens, pois apresentam em sua maioria, a forma furiosa da doença, detendo o poder de disseminar o vírus entre os demais susceptíveis (Pastoret et al. 1989).

O diagnóstico definitivo da raiva é laboratorial, já que os sinais clínicos são diversos e não existem sinais ou lesões *post-mortem* que possam ser consideradas patognomônicas (Corrêa & Corrêa 1992). Segundo, a Office International des Epizooties (2001), a imunofluorescência direta (IFD), segundo metodologia descrita por Goldwasser & Kissiling (1958), com ligeira modificação de Dean et al. (1996), é o teste mais indicado, por ser mais rápido e por sua acurácia propiciando resultados confiáveis em 90% a 99% dos casos. Apesar de o teste biológico de inoculação intracerebral em camundongos (ICC), descrito por Koprowiski (1996), ser mais sensível, o tempo necessário para a realização do diagnóstico é maior (21-30 dias), portanto, a ICC é realizada concomitantemente com a IFD, como método complementar e confirmatório do diagnóstico.

Ressalta-se ainda, que a técnica da reação em cadeia pela polimerase junto com a transcrição reversa (RT-PCR) foi desenvolvida para identificar o RNA do vírus rábico em amostras degradadas, sendo mais sensível que a IFD e a ICC, embora existam controvérsias na sua utilização em diagnóstico de rotina (Ito et al. 2001).

A profilaxia da raiva é realizada através de programas de erradicação e controle da raiva urbana, controle da raiva silvestre, medidas de transporte internacional de animais e procedimentos de vacinação prévia e de pós-exposição em seres humanos (Acha & Szyfres 1986). O controle da raiva urbana baseia-se na vacinação de cães e gatos que possuem dono e eliminação de animais de rua. Na raiva silvestre deve-se levar em consideração os morcegos e os carnívoros terrestres. No caso dos morcegos, os procedimentos consistem na vacinação dos animais domésticos e de produção que vivem em áreas expostas e à redução dos morcegos hematófagos, através do uso de pastas vampiricidas que são compostas por anticoagulantes. O transporte internacional de animais proíbe a introdução de animais de áreas infectadas em países livres da doença, se estes não possuírem certificado comprovando estar em dia com as vacinas obrigatórias (Fernandes 2003).

Atualmente, os morcegos são estudados como reservatórios e, ou transmissores de agentes patogênicos para o homem, como o vírus da raiva (Martorelli et al. 1996). Carini (1911) foi o primeiro a levantar essa hipótese, quando diagnosticou um surto em bovinos em Santa Catarina, onde os animais agredidos por morcegos hematófagos desenvolviam

sintomatologia de raiva. Sendo confirmado em 1936, por Pawan com o isolamento a partir de morcegos hematófagos, na Ilha de Trinidad.

A raiva transmitida por morcegos insetívoros das espécies *Dasypterus floridanus* e *Lasiurus seminolus*, foi demonstrada nos Estados Unidos pela primeira vez, por Venters (1954). Desde então, mais de 30 espécies infectadas pelo vírus da raiva já foram identificadas, entre as 39 espécies que vivem no norte do México, Estados Unidos e Canadá (Constantine 1970). Registrando-se, inclusive, 10 mortes humanas, creditadas à exposição a morcegos (Constantine 1979).

Na África, King & Crick (1988) descreveram dois sorotipos, variantes do vírus clássico, o Lagos Bat isolado de um morcego frugívoro, e o Duvenhage isolado do cérebro de um homem morto semanas após ter sido atacado por um morcego não identificado.

Na Europa, em 1954, foi relatado um caso de raiva transmitida por um morcego em Hamburgo, Alemanha, porém nos 30 anos seguintes, foram registrados apenas casos esporádicos. Porém na década de 80, os morcegos voltaram a chamar atenção com a ocorrência de uma epidemia na Europa, onde uma criança morreu em 1983, na antiga União das Repúblicas Socialistas Soviéticas, 21 dias após ter sido mordida no lábio por um morcego, e em 1985 um pesquisador finlandês morreu de raiva após ser repetidamente mordido por morcegos (Gardner 1989).

Por esse motivo, alguns países europeus resolveram investigar a presença do vírus rábico na população de quirópteros. A Dinamarca, em 1986 analisou 550 morcegos, dos quais 104 apresentaram-se positivos, sendo 102 insetívoros da espécie *Eptesicus serotinus*. Na Holanda de uma amostra de 1250 morcegos analisados, 86 apresentaram-se positivos, sendo 83 *Eptesicus serotinus* e três *Myotis dasycneme*. Na Inglaterra, de 500 morcegos examinados no período de janeiro de 1985 a outubro de 1988, foram encontrados nove positivos (Gardner 1989).

Foram descritos na Europa, mais dois genótipos segundo King & Turner (1993) o European Bat Lyssavirus 1 (EBL 1) e o European Bat Lyssavirus 2 (EBL 2), isolados de morcegos insetívoros das espécies *Eptesicus serotinus* e *Myotis dasycneme*, respectivamente, ambos causando mortes humanas. Em 1996, na Inglaterra, um morcego da espécie *Myotis daubentonii*, apresentou-se positivo para EBL2 (Meldrum 1996).

No Brasil, no estado do Rio Grande do Sul, Silva (1961) isolou o vírus de um morcego *Phyllostomus hastatus hastatus*, o mesmo ocorreu quando Bauer & Crusius (1965) isolaram o vírus de um morcego insetívoro *Tadarida brasiliensis*. Desde então, 24 espécies de morcegos

já foram diagnosticadas com raiva no Brasil, 14 da família Phyllostomidae, 6 da família Molossidae e 4 da família Vespertilionidae (Uieda et al. 1992).

Uieda et al. (1995) descreveram quatro casos de raiva em morcegos insetívoros no sudeste brasileiro, em municípios do estado de São Paulo, no período de 1988 a 1991, dois eram da espécie *Nyctinomops macrotis*, um *Nyctinomops laticaudatus*, sendo estes os primeiros registros de raiva nestas espécies, no Brasil, e um *Molossus molossus*. No mesmo ano Martorelli et al. (1995) descrevem um caso positivo no município de Ribeirão Pires, num morcego insetívoro da espécie *Myotis nigricans*. Em São Paulo, Bernardi et al. (1998) isolaram o vírus a partir de um morcego da espécie *Hystiotus velatus*, que foi encontrado em local e horário anormais.

No período de 1996 a 1998, no Estado de São Paulo, 53 quirópteros foram diagnosticados (8 hematófagos, 26 insetívoros, 18 frugívoros) positivos para raiva. Destes, 43 foram encontrados e/ou capturados em áreas urbanas. Em 1998, o Estado de São Paulo apresentou, em áreas urbanas, mais focos de raiva em quirópteros (38) que em cães e gatos (7), sendo 17 em insetívoros. Este crescente diagnóstico de raiva em quirópteros em áreas urbanas é um fato preocupante, visto que há interação morcego hematófago-não hematófago, elevando a possibilidade de transmissão da raiva a humanos e a espécies de animais domésticos como os cães e gatos (Kotait et al. 1998).

Heinemann et al. (2002), identificou duas variantes de vírus rábico, uma do ciclo silvestre, isolada de morcegos e bovinos e outra do ciclo urbano, isolada de cães. Germano et al. (1990) identificaram cinco variantes do vírus rábico, isoladas de diferentes espécies e em diferentes regiões do Brasil. A raiva foi diagnosticada em morcegos insetívoros da espécie *Molossus molossus* na região Nordeste do Brasil (Gomes et al. 2003, Gomes 2004). Recentemente, foi confirmada a existência de cinco variantes do vírus rábico no semi-árido paraibano: canina, raposa 1, raposa 2, morcegos insetívoros e morcegos hematófagos, distintas de amostras do Brasil e do mundo estudadas anteriormente (Gomes 2004, Bernardi et al. 2005, Shoji et al. 2006). Através de uma caracterização antigênica (MABs) com anticorpos monoclonais e genética por seqüenciamento parcial do Gene P codificador da fosfoproteína fica evidente a relação evolutiva de um grupo de vírus rábico com os morcegos insetívoros (*Molossus molossus*), reforçando a importância dessa espécie como reservatório do vírus rábico no semi-árido paraibano (Bernardi et al. 2005; Shoji et al. 2006).

Consideráveis progressos têm sido feitos na profilaxia da raiva urbana no Brasil, após a instalação do Programa Nacional para Controle da Raiva, com significativa redução no número de cães e gatos infectados entre o período de 1995 e 2000 (Favoretto et al. 2002).

Estes resultados influenciaram diretamente na redução do número de casos de raiva humana provocados por esses animais, que vem diminuindo desde a década de 1970 e manteve esta tendência até a segunda metade da década de 1990, onde se observa uma certa estabilidade no número de casos registrados, que se concentram nas regiões Nordeste e Norte, enquanto a região Sul se mantém livre da doença (Organização Pan-Americana de Saúde 2001, Rede Interagencial de Informação para a Saúde 2002). Na década de 1980 a 1989, foram notificados 873 casos de raiva em humanos (Ministério da Saúde 2000), enquanto que no período de janeiro de 1992 a dezembro de 2001, foram notificados 313 casos de raiva humana no Brasil. No mesmo período, no estado da Paraíba foram registrados oito casos de raiva humana, sendo que um destes ocorreu na região de Patos, no ano de 1992 (Araújo 2002). Apesar da eficiência comprovada deste programa, países de dimensões continentais como o Brasil, com rica fauna nativa, necessitam estar vigiando constantemente a raiva, pois novos casos podem surgir a partir da reintrodução do vírus por animais silvestres, quando esses mordem o homem ou os animais domésticos. (Mori et al. 2005).

Os cães, ainda são responsáveis pela manutenção da doença em muitos países da África, Ásia e América Latina, onde as estruturas veterinária e sanitária são inadequadas (Acha & Szyfres 1986). Muitos países da América Latina ainda não conseguiram controlar o ciclo da raiva urbana, principalmente naqueles onde o cão, assume o papel de principal transmissor por sua convivência muito próxima do homem. Países como o Peru e o México apresentam, respectivamente, coeficientes de 0,27 (63 casos) e de 0,09 (69 casos) por mil habitantes, que são índices considerados muito altos (Nociti et al. 2003).

Santos et al. (2006) ao analisarem 24.722 amostras do sistema nervoso central de diferentes espécies animais, provenientes de municípios do Estado de Goiás, encontraram reações positivas para raiva em 22,1%, ou seja, em 5.471 das amostras. Os casos de raiva em cães e gatos decresceram de forma acentuada, sendo registrados 25 casos em cães e 2 em gatos no ano de 2001. Em bovinos, equínos e quirópteros o número de casos entre 2000-2001, aumentaram significativamente, houve um crescimento de 16,4% para os casos em bovinos, atingindo 67,5% de amostras positivas (249/369) em 2001. Já nos quirópteros o aumento no número de animais positivos, entre 1997 e 2001, foi de 13,6%. Tais resultados servem de alerta aos profissionais da área, para que intensifiquem a atuação no controle populacional de quirópteros, a qual deve ser conduzida de acordo com o estabelecido no Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros, respeitando-se os critérios ecológicos (Brasil 2002).

Na maioria dos países da Ásia, América Latina e África, a raiva endêmica é um grave problema, evidenciável por uma importante mortalidade de pessoas e animais domésticos

(Acha & Szyfres 1986, World Health Organization 1993). Sem dúvida, o caráter de zoonose é o que mais preocupa nessa doença, pois se estimam mais de 50.000 mortes em humanos pela raiva todos os anos nos países menos desenvolvidos (Nociti et al. 2003). No Brasil, que possui um rebanho de aproximadamente 195 milhões de bovinos, estima-se uma mortalidade de 842.688 animais anualmente com raiva (Lima et al. 2005).

Apesar da menor frequência de raiva em ovinos e caprinos do que em bovinos, deve-se considerar que o rebanho de pequenos ruminantes no Brasil é de 14.556.484 ovinos e 9.581.653 caprinos, e que a maior concentração de ovinos é encontrada no Nordeste e no Rio Grande do Sul, e a maior concentração de caprinos no Nordeste (IBGE 2003). A Região Nordeste abrange uma área total de 166,2 milhões de hectares, dos quais 95,2 milhões (57%) estão inseridos na zona semi-árida, e as características da região semi-árida, tais como: presença de micro-nichos, presença de cavernas, grutas e minas abandonadas e a diversidade de animais silvestres, podem favorecer a transmissão da raiva entre espécies, principalmente de animais silvestres para animais domésticos (Morais et al. 2000, Gomes et al. 2005, Mori et al. 2005).

A Região Nordeste apesar de detentora do maior rebanho brasileiro de caprinos e ovinos, apresenta baixas taxas de produtividade na caprinovinocultura, uma das razões é o regime de exploração que, predominantemente, é o extensivo, com alta dependência da vegetação nativa, obrigando os animais a percorrerem grandes distâncias diariamente em busca de alimento, propiciando o contato com animais silvestres existentes na região, expondo-os ao risco de serem agredidos, fato este que se agrava quando associado a um manejo sanitário inadequado, no qual não é prática comum a vermifugação e vacinação anti-rábica (Gomes 2004, Lima et al. 2005). Na atual situação do semi-árido, onde a raiva é endêmica (Gomes 2004, Lima et al. 2005), há vários casos registrados de raiva em diversas espécies de mamíferos silvestres (Barros et al. 1989, Moraes et al. 2000, Oliveira et al. 2001, Instituto Pasteur 2001, Gomes 2004, Gomes et al. 2005, Mori et al. 2005), o tipo de manejo a que são submetidos tornam os animais domésticos, dentre eles os caprinos, susceptíveis aos ataques de animais silvestres que podem estar “raivosos”, o que é um perigo constante, pois os animais silvestres quando estão com raiva se aproximam das habitações (Acha & Szyfres 1986).

Em 1995, na América Latina, 794.356 pessoas foram expostas ao risco da raiva devido a agressões de animais; em 1999, esse número cresceu para 933.260. Quanto ao número de pessoas que receberam algum tipo de tratamento pós-exposição, este subiu de 292.233 em 1995 para 310.734 em 1999. A participação de brasileiros no número de pessoas expostas ao

risco nesse período foi de 44,5%; já quanto ao percentual de pessoas que receberam tratamento pós-exposição, foi de 72,0% (Rigo & Honer 2005).

Nas últimas décadas a raiva tem causado numerosas mortes na América Latina (Schneider et al. 2001), e os morcegos têm sido identificados como a segunda espécie animal mais importante no ciclo de transmissão da raiva humana (Inppaz 1997). Após o primeiro caso de raiva humana transmitida por morcegos hematófagos em Trinidad em 1930, quando 55 pessoas morreram (Verteuil & Urich 1935), aproximadamente 1000 mortes humanas foram atribuídas a raiva transmitida por morcegos hematófagos, e este número provavelmente é subestimado (Alvarez 1997). Os países que reportaram mais casos entre 1990 e 1995 foram o Peru com 78 casos e o Brasil com 43 casos (Alvarez 1997). No Brasil em Roraima, são freqüentes os ataques de morcegos a pessoas que vivem em vilarejos próximos as florestas (Uieda et al. 1996)

Na zona urbana do Brasil, embora entre 1980 e 1989 o número de casos positivos em humanos tenha sofrido uma redução de 78%, a partir de 1990 a incidência dos casos de raiva em humanos apresentou um comportamento crescente (Nociti et al. 2003). Este aumento pode ser atribuído, principalmente, pela falha na educação sanitária, porque o tratamento vacinal pós-exposição não foi realizado, ou foi abandonado (Organizacion Panamericana de la Salud 1993). Como se sabe, o tratamento de seres humanos expostos ao vírus rábico pela aplicação de prolongado processo de imunização com posologia variável de acordo com as gravidades das lesões, ainda é a única conduta capaz de prevenir a doença. (Schneider et al. 1996).

Araújo (2002), relatou que a região Nordeste foi à região brasileira com maior incidência de casos de raiva humana notificados às Secretarias de Saúde Municipais e Estaduais, através do Sistema de Notificação da Raiva Humana, durante o período de 1992 a 2001, representando 50,48% da amostra analisada, e que os morcegos foram responsáveis pela transmissão de 9,6% dos casos, ficando atrás apenas dos cães.

Os casos que vêm ocorrendo nas últimas décadas demonstram que a raiva no Brasil não está sob controle, apesar de existir tecnologia e profilaxia eficientes (Borges 1998). Tanto é que, nos últimos anos, foi registrado o maior surto de raiva humana transmitida por morcegos nos estados do Pará e Maranhão. Nos surtos de raiva no estado do Pará, 16 pessoas morreram no município de Portel entre os meses de março e abril de 2004 (Ministério da Saúde 2004a, b, c), e 15 pessoas morreram no município de Augusto Corrêa entre os meses de maio e junho de 2005 (Ministério da Saúde 2005), totalizando 31 casos de raiva, todos associados a agressões por morcegos hematófagos. Já no Estado do Maranhão, morreram 32 pessoas, tendo 17 dos casos ocorridos com pessoas domiciliadas na zona rural do município de Turiaçu, os

outros casos ocorreram na divisa com o Pará, em cidades quase vizinhas ao município Augusto Côrrea-PA. A maioria dos casos em ambos os estados, ocorreram em áreas rurais ou nas redondezas, e a investigação epidemiológica realizada indicaram forte associação entre o surgimento de casos de raiva em suínos, relatados no ano de 2004, coincidindo com o mesmo período das agressões as pessoas, o que demonstra a circulação viral ativa no meio ambiente (Ministério da Saúde 2005).

Para se estabelecer medidas de controle, torna-se essencial conhecer melhor o papel desempenhado pelas diferentes espécies envolvidas na manutenção do vírus da raiva na natureza. Sendo o estudo da epidemiologia da doença de vital importância, para o melhor conhecimento dos focos naturais dessa zoonose, permitindo estabelecer melhor os fatores de risco existentes em determinados ecossistemas e as formas de circulação do agente entre as diversas espécies de animais de forma a subsidiar as ações dos serviços de Saúde Pública Veterinária.

REFERÊNCIAS

- Acha P.N. & Szyfres B. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª ed. Organización Panamericana de Salud, Washington, DC., p.502-526.
- Alvarez E. 1997. Rabia transmitida por vampiros: Distribución, frecuencia e importancia. Técnica Pecuaria en México, 35:93-104.
- Alvarez E. & Ruiz A. 1998. Municipios Libres de Rabia Canina: Uma proposta para su reconocimiento. Documento de tabajo. Versión Preliminar, Mexico, 1998. <http://www.panaftosa.org.br/novo/index.htm/>. Acesso em: 04/02/2002.
- Arai Y.T., Kuzmin I.V., Kameoka Y. & Botvinkin A. D. 2003. New Lyssavirus genotype from the lesser mouse-eared bat (*Myotis blythi*), Kyrghystan. Emerg. Infect. Dis. 9(3):333-337.
- Araújo F. A.A. 2002. Raiva Humana no Brasil, 1992-2001. Dissertação de Mestrado, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 90p.
- Baer G. M. 1975. Pathogenesis to the central nervous system. In BAER, G. M. The natural history of rabies. New York, Academic Press. 1:181-198.
- Balatazar S., Artois M. & Blancou J. 1992. Experimental infection of sheep with a rabies virus of canine origin: study of the pathogenicity for that species. Rev. Sci. Tech. Sep, 11(3):829-836.

- Barros J.S., Freitas C.E.A.A. & Sousa F.S. 1989. Raiva em animais silvestres no Estado do Ceará particularmente na raposa (*Dusicyon vetulus*). *Zoonoses Revista Internacional* 1(1):9-13.
- Bauer, A. G. & Crusius V. A. 1965. Isolamento do vírus rábico de morcego insetívoro na cidade de São Leopoldo-RS. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE VETERINÁRIA DO RIO GRANDE DO SUL, 4. Porto Alegre. p. 95.
- Bernardi F., Nadin-Davis S.A., Wandeler A.I., Armstrong J., Gomes A.A.B., Lima F. S., Nogueira F.R.B. & Ito F.H. 2005. Antigenic and genetic characterization of rabies viruses isolated from domestic and wild animals of Brazil identifies the hoary fox as a rabies reservoir. *J. Gen. Virol.* (86):3153-3162.
- Bernardi F., Gomes A. A. B., Ito F. H. & Sakai T. 1998. Raiva em morcegos não hematófagos. *Rev. ARS Vet.* 14(2):186-192.
- Borges C.H.P. 1998. Caracterização das populações canina e felina da zona urbana de Lençóis Paulista –SP, visando o controle da raiva. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo.
- Bourhy H., Kissi B., Tordo N., Badrane H. & Sacramento D. 1995. Molecular epidemiological tools and phylogenetic analysis of bacterial and viruses with special emphasis on lyssaviruses. *Prev. Vet. Med.* 25:161-181.
- Bourhy H., Kissi B. & Tordo N. 1993. Molecular diversity of the *Lyssavirus* genus. *Virology.* 194:70-81.
- Bourhy H., Sureau P. & Tordo N. 1990. From rabies to rabies-related viruses. *Vet. Microbiol.* 23:115-128.
- Brasil. 2002. Instrução Normativa N°5, de 1° de março de 2002. Aprova as Normas Técnicas para o controle da raiva dos herbívoros domésticos, em conformidade com o Anexo a esta Instrução Normativa. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, n.42, Seção 1.*
- Braund K.G., Brewer B.D. & Mayhew I.G. 1987. Inflammatory, infectious, immune, parasitic and vascular diseases. In: Oliver J.E., Hoerlein B.F. & Mayhew I.G. (Ed). *Veterinary Neurology.* W. B. Saunders, Philadelphia. p.266-274.
- Campbell J.B. & Charlton K.M. 1988. Rabies. Boston, Kluwer Academic Publisher. p. xi.
- Carini A. 1911. Sur une grande épizootie de rage. *Ann. L'Inst. Pasteur,* 25:843-846.
- Charlton K.M. 1988. The pathogenesis of rabies. In: Campbell J.B. & Charlton K.M. ed. *Rabies.* Boston, Kluwer Academic Publisher. p.101-150.

- Charlton K.M., Casey G.A. & Webster W.A. 1984. Rabies virus in salivary glands and nasal mucosa of naturally infected skunks. *Can. J. Comp. Med.* Jun.48(3):338-339.
- Clark K.A. 2001. Raiva. *Manual Merk de Veterinária*. 8ªed. São Paulo: Roca, 1861 p.
- Constantine D.G. 1970. Bats relation to the health welfare and economy of man. In: Wimatt, W. A. *Biology of bats*. New York, Academic Press. 2:319-449.
- Constantine D.G. 1979. Un updated list of rabies infected bats in North America. *J. Wildl. Dis.* 15:347-349.
- Correa W.M. & Correa C.N.M.1992. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2ªed., Rio de Janeiro: Medsi, p.609-628.
- Dean D.J., Abelseth M.K. & Atanasiu P. 1996. The fluorescent antibody test. In: Melsin F.X., Kaplan M.M. & Koprowski H. *Laboratory techniques in rabies*. 4ªed. Geneva: World Health Organization. p.88-95.
- Favoretto S.R., Carrieri M.L., Cunha E.M.S., Aguiar E.A.C., Silva L.H.Q., Sodr  M.M., Souza M.C.A.M. & Kotait I. 2002. Antigenic typing of brazilian rabies virus samples isolated from animals and Humans, 1989-2000. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 44(2):91-95.
- Fenner R., Bachmann P.A, Gibbs E. P., Murphy F.A, Studert M.J. & White D.O.1992. *Virologia Veterinária*. Zaragoza, Acribia, p.551-556.
- Fernandes C.G. 2003. Raiva. In: Riet-Correa F Schild A.L., Nendez M.D.C. & Lemos R.A.A. *Doenças de ruminantes e eqüinos*. São Paulo: Varela, 2ªed. v.1. p.149-162.
- Gardner S. D. 1989. Bat rabies in Europe. *J. Infectol.* 18:205-208.
- Germano P.M.L., Silva E.V., Miguel O. & Sureau P. 1990. Variantes antig nicas del virus de la rabia aisladas en el Nordeste y Sudeste del Brasil. Estudio preliminar. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, v.108. n.1.
- Germano P.M.L., Miguel O., Ishizuka M.M. & Silva E.V. 1988. Avalia o de tr s cepas de v rus rábico antigenicamente distintas, em camundongos. I. Estudo dos períodos de observa o clínica. *Rev. Saúde Pública, São Paulo*, 22:375-383.
- Gould A.R., Hyatt A.D., Lunt R., Kattenbelt J.A., Hengstberge S. & Blacksell S.D. 1998. Characterisation of a novel lyssavirus isolated from Pteropid bats in Australia. *Virus Research.* 54:165-187.
- Goldwasser R.A. & Kissling R.E. 1958. Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 98:219-223.
- Gomes A.A.B., Bernardi F., Oliveira A.G.F., Ito F.H., Maiorka P.C., Soares R.M., Heinemann M.B., Cortez A. & Richtzenhain L.J. 2005. Raiva experimental em caprinos e

- ovinos inoculados com uma amostra de vírus isolada de raposa (*Dusicyon vetulus*). Ciênc. Vet. Trop., Recife-PE. 8(1/2/3):29-34.
- Gomes A.A.B. 2004. Epidemiologia da raiva: caracterização de vírus isolados de animais domésticos e silvestres do semi-árido paraibano da região de Patos, Nordeste do Brasil. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 107p.
- Gomes A.A.B., Bernardi F., Nadin-Davis S., Wandeler A.I., Sakai T., Itou T., Lima F.S., Nogueira F.R.B. & Ito F.H. 2004. Raiva na região semi-árida de Patos, Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Anais. XXXI Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, São Luis.
- Gomes A.A.B., Alves C.J., Lima F.S., Batista C.S.A., Araújo Neto J.O., Pignata W.A., Tavares M.A.S., Freitas T.D. & Clementino I.J. 2003. Raiva em morcegos insetívoros (*Molossus molossus*) no Nordeste do Brasil. Anais. 5º Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, Recife, p.342-343.
- Heinemann F.M., Fernandes-Matioli F.M.C., Cortez A., Soares R.M., Sakamoto S.M., Bernardi F., Ito F.H., Madeira A.M.B.N. & Richtzenhain L.J. 2002. Genealogical analysis of rabies virus strain from Brazil based on N gene alleles. Epidemiol. Infect. 128:503-511.
- IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2003. Rebanho bovino se destaca na Produção Pecuária Municipal de 2003. <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/>. Acesso em: 14/02/2005.
- INPPAZ (Pan-American Institute for Food Protection and Zoonoses). 1997. Regional Information on Rabies in the Americas. INPPAZ in the Americas, 5. Buenos Aires: Pan-American Health Organization.
- INSTITUTO PASTEUR DE SÃO PAULO 2001. http://www.pasteur.saude.sp.gov.br/informacoes/informacoes_04.htm/ Acesso em: 23/11/2001.
- Ito M., Itou T., Sakai T., Santos M.F.C., Arai Y.T., Takasaki T., Kurane I. & Ito F.H. 2001. Detection of Rabies Virus RNA Isolated from Several Species of Animals in Brazil by RT-PCR. J. Vet. Med. Sci. 63(12):1309-1313.
- Jones T.C., Hunt R.D. & King N.W. 2000. Patologia veterinária. 6ªed. São Paulo: Manole. 1415p.
- Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. 1993. Rabies. Pathology of Domestic animals. 4ªed. Academic Press, San Diego. v.3, 653p.
- Kaplan C., Turner G.S. & Warrell D.A. 1986. Rabies: the facts. 2ªed. Oxford, Oxford University Press. 126p.
- King A.A. & Turner G.S. 1993. Rabies: a review. J. Comp. Pathol. 108(1):1-39.

- King A. & Crick J. 1988. Rabies-related viruses. In: Campbell J.D. & Charlton K.M. Rabies. Massachusetts, kluwer Academic Publishers. p.177-179.
- Koprowski H. 1996. The mouse inoculation test. In: Meslin F.X., Kaplan M.M. & Koprowisk H. Laboratory techniques in rabies. 4^{ed}. Geneva, World Health Organization. p. 80-87.
- Kotait I., Harmani N.M.S., Favoretto S.L., Carrieri M.L., Sodré M.M., Panachão M.R.I. & Takaoka N.Y. 1998. Manejo de quirópteros em focos de raiva em áreas urbanas. Instituto Pasteur / Secretaria de Estado do Estado de São Paulo – SP; *Centro de Controle de Zoonoses / Prefeitura do Município de São Paulo. 1998. http://www.pasteur.saude.sp.gov.br/informacoes/anais/seminario_internacional/resumo_7_4.htm Acesso em: 15/02/2006.
- Langohr I.M., Irigoyen L.F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2003. Aspectos epidemiológicos e clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. *Ciência Rural* 33(1):125-131.
- Lima E.F., Riet-Correa F., Castro R.S., Gomes A.A.B. & Lima F.S. 2005. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 25(4):250-264.
- Lemos R.A.A. 2005. Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões centro-oeste e sudeste do Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 155p.
- Martorelli L.F.A., Aguiar E.A.C., Almeida M.F., Silva M.M.S. & Nunes V.F.P. 1996. Isolamento do vírus rábico de morcego insetívoro *Lasurus borealis*. *Rev. Saúde Pública*, v. 30, n.1.
- Martorelli L.F.A., Aguiar E.A.C., Almeida M.F., Silva, M.M.S. & Novaes E.C.R. 1995. Isolamento do vírus rábico de morcego insetívoro *Myotis nigricans*. *Rev. Saúde Pública*, 29(2):140-141.
- Meldrum K.C. 1996. [Ministry of Agriculture Fisheries and Food]. Rabies in the United Kingdom, Great Britain. *Disease Information*. 9(22):3-4.
- Ministério da Saúde. 2005 Fundação Nacional de Saúde. Raiva humana: Saúde ajuda autoridades do Pará a conter surto. 2005. Nota técnica – 14/06/2005 Brasília. <http://www.saude.gov.br/svs/destaques/raiva/htm> Acesso em 23/11/2006.
- Ministério da Saúde. 2004a. Fundação Nacional de Saúde. Raiva humana transmitida por morcegos no Estado do Pará. 2004. Nota técnica – 02/04/2004 Brasília. <http://www.saude.gov.br/svs/destaques/raiva/htm> Acesso em 23/11/2006.

- Ministério da Saúde. 2004b Fundação Nacional de Saúde. Raiva humana transmitida por morcegos no Estado do Pará 2. 2004 Nota técnica – 06/04/2004 Brasília. <http://www.saude.gov.br/svs/destaques/raiva/htm> Acesso em 23/11/2006.
- Ministério da Saúde. 2004c Fundação Nacional de Saúde. Raiva humana transmitida por morcegos em municípios do Estado do Pará. 2004. Nota técnica – 20/05/2004 Brasília. <http://www.saude.gov.br/svs/destaques/raiva/htm> Acesso em 23/11/2006.
- Ministério da Saúde. 2000. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. Relatórios da Coordenadoria de Zoonoses e Animais Peçonhentos de 1980 a 1999. Brasília. 2000. <http://www.saude.gov.br/svs/destaques/raiva/htm> Acesso em 16/01/2005.
- Ministério da Saúde. 1996. Fundação Nacional de Saúde. Morcegos em áreas urbanas e rurais: manual de manejo e controle. Gráfica e Editora Brasil, Brasília. 117p.
- Morais N.B., Rolim B.N., Chaves H.H.M., Brito-Neto J. & Silva L.M. 2000. Rabies in tamarins (*Callithrix jacchus*) in the State of Ceará, Brazil, a distinct viral variant? Mem. Inst. Osw. Cruz, 95(5):609-610.
- Mori A., Carvalho M.I.R.P.R., Tahara V.H., Hirch C. & Souza M.L.O. 2005. Controle da raiva urbana em cães para o controle da raiva em humanos. 2005. http://www.editora.ufla.br/Boletim/pdfextensao/bol_80.pdf Acesso em: 23/07/2005.
- Nilsson M.R., Sugay W. & Pasqualin O.L. 1968. Diagnóstico da raiva, observações sobre o tempo de incubação e a duração da doença em camundongos, no período de 1960 a 1966. Arq. Inst. Biol. 25:1-7.
- Nociti D.L.P., Caramori Júnior J.G., Jesus L.P., Samara S.I. & Araújo Junior A. 2003. Anticorpos contra o vírus rábico em seres humanos com atividades no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso. Cuiabá, MT, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 36(3):355-358.
- Office International des Epizooties (OIE). 2001. Internacional Animal Health Code. Diagnostics & vaccines. Manual of standards. Chapter 3.1.5 – Rabies. http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_00039.htm. Acesso em: 24 /08/2001.
- Oliveira A.G.F., Clementino I.J., Freitas T.D., Alves C.J. & Gomes A.A.B. 2001. Comportamento biológico de amostras de vírus rábico isoladas de raposa (*Dusicyon vetulus*), da região do semi-árido do Brasil. In: XXVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Salvador-BA.
- Organización Pan-Americana de la Salud (Rio de Janeiro). 2001. Bol 33: Vigilancia epidemiológica de la rabia en las Américas. 40p.

- Organizacion Panamericana de la Salud. 1993. Vigilancia epidemiológica de la rabia en las Américas. Buenos Aires, INPPAZ.
- Pastoret P.P., Brochier B., Thomas I., Leveau T., Bauduin B. & Costy F. 1989. Fox rabies in Europe. *Irish Veterinary Journal*. 42:93-95.
- Pawan J. L. 1936. The transmission of palitic rabies Trinidad by the vampire bats. *Trop. Med. Parasitol.* 30:101-130.
- Rede Interagencial de Informação para a Saúde (Brasília). 2002 Indicadores básicos de saúde no Brasil: conceitos e aplicações. Organização Pan-Americana de Saúde, DF – Brasil. p.150-151.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Mendez M.C., Oliveira J.A., Gil-Turnes C. & Goncalves A. 1983. Relatório das atividades e doenças da área de influência no período de 1978-1982. Laboratório Regional de Diagnóstico. Editora e Gráfica Universitária, Pelotas, 98 p.
- Rigo L. & Honer M.R. 2005. Análise da profilaxia da raiva humana em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, em 2002. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 21(6):1939-1945.
- Santos M.F.C.S., Resende R.M., Neves Sobrinho R. & Vieira S. 2006. Diagnóstico laboratorial da raiva no estado de Goiás no período de 1976 a 2001. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia. 7(1):77-83.
- Schneider M.C., Aron J., Santos-Burgoa C., Uieda W. & Ruiz-Velazco S. 2001. Common vampire bat attacks on humans in a village of the Amazon region of Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 17(6):1531-1536.
- Schneider M.C., De Almeida G.A., Souza L.M., De Moraes N.B. & Diaz R.C. 1996. Controle da raiva no Brasil de 1980 a 1990. *Rev. Saúde Pública*, 30:196-203.
- Shoji Y., Kobayashi Y., Sato G., Gomes A.A.B., Itou T., Ito F.H., Sakai T. 2006 Genetic and phylogenetic characterization of rabies virus isolates from wildlife and livestock in Paraíba, Brazil. *Acta Virol.* 50(1):33-37.
- Silva R.A. 1961. Isolamento de vírus rábico de morcego insetívoro da espécie *Phyllostomos hastatus hastatus*. *Arch. Inst. Biol. Anim.*, 4:115-120.
- Smith J.S. 1996. New aspects of rabies with emphasis on epidemiology, diagnosis, and prevention of the disease in the United States. *Clin. Microbiol. Rev.*, 9(3):166-176.
- Smith J.S. & Baer G.M. 1988. Epizootiology of rabies: The Americas. In: Campbell J. B. & Charlton K. M. Ed. *Rabies*. Boston, Kluwer Academic Publishers. p. 267-299.
- Steele J.H. & Fernandez P.J. 1991. History of rabies and global aspects. In: Baer G.M. (Ed). *The Natural history of rabies*. 2ªed. Boca Raton, USA: CRC, p.1-24.

- Steele J. H. 1975. History of rabies. In: Baer G. M. (Ed). The natural history of rabies. New York, Academic Press, v.1, p.1-29.
- Storts R.W. 1998. Sistema nervoso central. In: Carlton W.W. & McGavin M.D. Patologia Veterinária Especial. 2ªed. Porto Alegre: ArtMed, 353-416.
- Sureau P., Rollin P. & Wiktor T.J. 1983. Epidemiologic analysis of antigenic variations of street rabies virus: detection by monoclonal antibodies. American Journal of Epidemiology. 117(5):605-609.
- Swanepoel R. 1994. Rabies. In: Coetzer J.A.W., Thomson F.R. & Tustin R.C. Infections Diseases of Livestock, with special reference to Southern Africa. Cape Town: Oxford University, v.1., p.392-400.
- Thongcharoen P., Wasi C. & Sirikavin S. 1981. Human-to-human transmission of rabies via corneal transplout – Thailand. Morbidity Weekly Pefort. Centers for oliscase control. v.30, p.473-474.
- Tordo N. 1996. Characteristics and molecular biology of the rabies virus. In: Meslin F.X., Kaplan M.M. & Koprovski H. Laboratory techiniques in rabies. Fourth edition. Geneva. World Health Organization. p.28-51.
- Tordo N. & Poch O. 1988. Structure of rabies virus. In: Campbell J.B.& Charlton K. M. (Ed). Rabies. Boston, Kluwer Academic Publisher. p. 25-45.
- Uieda W., Hayashi M.M., Gomes L.H. & Silva M.M.S. 1996. Espécies de quirópteros diagnosticadas com raiva no Brasil. Bol. Inst. Pasteur, 1:17-36.
- Uieda W., Harmani N.M.S. & Silva M.M.S. 1995. Raiva em morcegos insetívoros (*Molossidae*) do Sudeste do Brasil. Rev. Saúde Pública, 29(5):393-397.
- Uieda W., Harmani N.M.S. & Silva M.M.S. 1992. Lista das espécies de morcegos diagnosticadas com raiva no Brasil. In: Seminário Nacional da Raiva, São Paulo, Resumo 12.
- Venters H. D. 1954. Rabies in bats in Florida. J. Public Health, v.44, p.182-185.

World Health Organization (WHO) 1993. Expert committee on rabies. Geneva. Eighth Report. Technical Report Series 824. 88 p.

CAPÍTULO II

**TRABALHO ENVIADO À PESQUISA
VETERINÁRIA BRASILEIRA**

Raiva experimental em caprinos inoculados com amostra de vírus isolado de morcego insetívoro (*Molossus molossus*)¹

Fabiano da Silva Lima², Albério Antonio de Barros Gomes³, Clebert José Alves⁴, Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva⁵, Juliana Targino Silva de Almeida Macêdo², José Othon de Araújo Neto²

ABSTRACT.- Lima F.S., Gomes A.A.B., Alves C.J., Silva M.L.C.R., Macêdo J.T.S.A., Araújo Neto J.O. 2007. [Experimental rabies in caprines inoculated with sample virus isolated from insectivorous bat (*Molossus molossus*)]. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB 58700-000, Brazil. E-mail: alberiogomes@bol.com.br

In the semiarid region, of northeastern Brazil, the caprine production constitutes the fundamental activity of social and economic importance. The form of exploration predominate is the extensive, out in propitiating the contact with wild animals and associated in the inexistence the antirabic vaccination of susceptibles. In order to better understand the disease in this species, six caprines, aged 3-5 month old were inoculated in the masseter and gluteo muscles, with the objective to verify the susceptibility of the virus isolated from the insectivorous bat *Molossus molossus*, to verify the incubation period, the symptoms and signs and to determine the histopathologic aspects through the histologic lesions in the SNC localization, to subsidize the diagnostic. Eighteen days after inoculation, the caprine inoculated in the masseter muscle, showed loss of appetite, apathy, salivation, laterals movements in the head and unbalanced that evolved ready to lateral decubit and paralisys. Death occurred after five days from the beginning of the symptoms. Forty days after inoculation, the caprine inoculated in the masseter muscle and forty four days after inoculation, the caprine inoculated in the gluteo muscle, showed loss of appetite, apathy and muscles tremblings, both the paralisys

¹ Recebido para publicação em.....

² Aluno do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária de Pequenos Ruminantes, Universidade Federal de Campina Grande.

³ Professor Adjunto do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, Patos, PB, 58700- 000. Brasil. E-mail: alberiogomes@bol.com.br

⁴ Professor Adjunto do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande.

⁵ Aluno do Curso de Medicina Veterinária, UFCG/CSTR, Campus de Patos, PB.

square developed. The first evolved for sternum decubitus followed of the lateral decubitus and death in seven days. The caprine inoculated in the gluteo muscle evolved for the lateral decubitus and death after the five days. In the both tests, the fluorescent antibody test (FAT) and mouse inoculation test (MIT), showed positives for central nervous system samples for the three animals dead. However, the samples presented discrepant results between the FAT and MIT, except one of the caprine that presented positive results in the all samples analyzed. Through the FAT, the rabies antigen were demonstrated in the parotid salivary gland samples and the virus isolated through the MIT. Histologic lesions were characterized by mononuclear cells perivascular accumulation, diffuse non-suppurative encephalomyelitis and meningitis, neuronophagia and Negri bodies were more frequent in the cerebellum.

INDEX TERMS: Rabies, caprines, insectivorous bats, susceptibility, clinical signs, pathology.

RESUMO.- No semi-árido nordestino a caprinocultura constitui uma atividade de fundamental importância social e econômica. O regime de exploração predominantemente é o extensivo, propiciando o contato com animais silvestres, o que associado à inexistência de vacinação anti-rábica torna-os susceptíveis. Para melhor compreensão da raiva nessa espécie, 06 caprinos de 3-5 meses de idade foram inoculados no masseter e glúteo, com o objetivo de verificar a suscetibilidade ao vírus rábico isolado de morcego insetívoro (*Molossus molossus*), bem como registrar o período de incubação, os principais sinais e sintomas e determinar os aspectos histopatológicos, através da localização das lesões histológicas no sistema nervoso central, visando subsidiar o diagnóstico. Dezoito dias após a inoculação um caprino inoculado no masseter apresentou anorexia, apatia, movimentos laterais da cabeça salivação e perda do equilíbrio que evoluiu para decúbito lateral e paralisia, e morte cinco dias após o início dos sinais. Quarenta dias pós-inoculação, um caprino inoculado no masseter e 44 dias pós-inoculação um caprino inoculado no glúteo, apresentaram anorexia, apatia e tremores musculares, ambos desenvolveram quadro de paralisia. O primeiro evoluiu para decúbito esternal seguido de decúbito lateral e morte em sete dias. O caprino inoculado no glúteo evoluiu para decúbito lateral e morreu cinco dias após. Às provas de IFD e ICC mostraram-se positivas para sistema nervoso central dos três animais que vieram a óbito, entretanto houve discrepância nos resultados entre as duas

provas, com exceção de um caprino que apresentou resultados positivos em todos os fragmentos analisados em ambas as provas. Através da IFD, detectou-se o antígeno rábico a partir de fragmentos das glândulas salivares parótidas, e por meio da ICC foi possível o isolamento do vírus. Os achados histopatológicos foram caracterizados por acúmulos perivasculares de células mononucleares, encefalomielite e meningite não supurativa multifocal, neuroniofagia e corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos, com maior predominância no cerebelo.

PALAVRAS CHAVES: Raiva, caprinos, morcegos insetívoros, suscetibilidade, sinais clínicos, patologia.

INTRODUÇÃO

Na maioria dos países da Ásia, América Latina e África, a raiva endêmica é um grave problema, evidenciável por uma importante mortalidade de pessoas e animais domésticos (Acha & Szyfres 1986, World Health Organization 1993). Sem dúvida, o caráter de zoonose é o que mais preocupa nessa doença, pois se estimam mais de 50.000 mortes em humanos pela raiva todos os anos nos países menos desenvolvidos (Nociti et al. 2003). No Brasil, que possui um rebanho de aproximadamente 195 milhões de bovinos, estima-se uma mortalidade de 842.688 animais anualmente com raiva (Lima et al. 2005).

Os casos que vêm ocorrendo nas últimas décadas demonstram que a raiva no Brasil não está sob controle, apesar de existir tecnologia e profilaxia eficientes (Borges 1998). Tanto é que, nos últimos anos, foi registrado o maior surto de raiva humana transmitida por morcegos nos estados do Pará e Maranhão. Nos surtos de raiva no estado do Pará, 16 pessoas morreram no município de Portel entre os meses de março e abril de 2004 (Ministério da Saúde 2004a, b, c), e 15 pessoas morreram no município de Augusto Correa entre os meses de maio e junho de 2005 (Ministério da Saúde 2005), totalizando 31 casos de raiva, todos associados a agressões por morcegos hematófagos. Já no Estado do Maranhão, morreram 32 pessoas, tendo 17 dos casos ocorridos com pessoas domiciliadas na zona rural do município de Turiaçu, os outros casos ocorreram na divisa com o Pará, em cidades quase vizinhas ao município Augusto Côrrea-PA. A maioria dos casos em ambos os estados, ocorreram em áreas rurais ou nas redondezas, e a investigação epidemiológica realizada indicaram forte associação entre o surgimento de casos de raiva em suínos, relatados no ano de 2004, coincidindo com o mesmo

período das agressões as pessoas, o que demonstra a circulação viral ativa no meio ambiente (Ministério da Saúde 2005).

No Brasil, a raiva é, na maioria das vezes, transmitida pelo morcego hematófago *Desmodus rotundus*; no entanto, outras espécies podem transmitir a doença (Fernandes 2003). A raiva foi diagnosticada em morcegos insetívoros da espécie *Molossus molossus* na região Nordeste do Brasil (Gomes et al. 2003, Gomes 2004). Recentemente, foi confirmada a existência de cinco variantes do vírus rábico no semi-árido paraibano: canina, raposa 1, raposa 2, morcegos insetívoros e morcegos hematófagos, distintas de amostras do Brasil e do mundo estudadas anteriormente (Gomes et al. 2004, Bernardi et al. 2005, Shoji et al. 2006). Através de uma caracterização antigênica (MABs) com anticorpos monoclonais e genética por seqüenciamento parcial do Gene P codificador da fosfoproteína fica evidente a relação evolutiva de um grupo de vírus rábico com os morcegos insetívoros (*Molossus molossus*), reforçando a importância dessa espécie como reservatório do vírus rábico no semi-árido paraibano (Bernardi et al. 2005, Shoji et al. 2006).

Apesar de raros os diagnósticos de raiva em caprinos e ovinos, estes são susceptíveis à infecção quando expostos experimentalmente ao vírus (Baltazar et al. 1992, Oliveira et al. 2002, Gomes 2004, Gomes et al. 2005). Na Paraíba foram diagnosticados três surtos de raiva em ovinos e três surtos de raiva em caprinos entre os anos de 2002 e 2004 (Gomes 2004, Lima et al. 2005, Guedes et al. 2007). No Rio Grande do Sul, entre os anos 1978 e 1982 foram diagnosticados quatro surtos de raiva em ovinos (Riet-Correa et al. 1983). Apesar de poucos relatos em caprinos e ovinos, a doença apresenta-se tanto na forma paralítica, como na furiosa, semelhante ao que ocorre nos bovinos, sendo a primeira, a mais predominante (Martell et al. 1974, Pépin et al. 1984, Baltazar et al. 1988, Gomes et al. 2005). Portanto, os sinais clínicos mais frequentes são incoordenação dos membros pélvicos, seguido de paresia e paralisia flácida, decúbito lateral e sialorréia (Rondon et al. 1995, Langohr et al. 2003, Lima et al. 2005). Sinais clínicos da forma furiosa como alterações do comportamento, agressividade e berros frequentes são discretos assim como prurido intenso com irritação cutânea (Hudson et al. 1996, Gomes et al. 2005).

As alterações patológicas de importância na raiva se restringem à microscopia, embora achados como ferimentos, mutilação, pneumonia por aspiração e corpos estranhos no estômago, sejam indicativos da doença (Riet-Correa et al. 1983, Swanepoel 1994, Fernandes 2003, Mori et al. 2005, Lemos 2005). As lesões geralmente

limitam-se ao sistema nervoso central (Jones et al. 2000) e os achados histopatológicos são variáveis e incluem encefalomielite não supurativa, multifocal, moderada com ganglioneurite linfocitária, gliose focal ou difusa e meningite cranio-espinhal (Lima et al. 2005). Nos ruminantes as lesões são mais proeminentes no tronco encefálico, cerebelo e medula espinhal (Langohr et al. 2003), hipocampo e gânglios trigeminais (Jones et al. 2000), podendo, inclusive ser discretas ou ausentes (Jubb & Huxtable 1993). Observa-se infiltrado mononuclear, manguitos perivasculares de linfócitos e em menor grau, macrófagos e plasmócitos, e raros histiócitos (Langohr et al. 2003, Lima et al. 2005), proliferação glial difusa, que inicialmente é microglial e, posteriormente, astrocitária (Storts 1998, Fernandes 2003), graus variáveis de degeneração neuronal e necrose neuronal (Langohr et al. 2003). A lesão patognomônica da raiva é a presença dos corpúsculos de Negri, que são corpúsculos de inclusão viral, intracitoplasmáticos – encontrados no corpo celular ou nos dendritos, redondos a ovais, com 0,25-0,27 μ m, eosinofílicos, individuais ou múltiplos, que ocorrem em todas as espécies animais. Podem ser encontrados em diferentes áreas no SNC, embora seja convencionalizado que eles são mais freqüentes nas células piramidais do hipocampo dos carnívoros e nas células de Purkinje do cerebelo dos herbívoros, mas podem ser encontrados em qualquer outra região do SNC (Swanepoel 1994, Jones et al. 2000, Langohr et al. 2003). Essas inclusões também podem ocorrer em neurônios de gânglios nervosos, glândulas salivares, língua e outros órgãos. A freqüência de aparecimento de corpúsculos de Negri parece ser inversamente proporcional ao grau de inflamação e não estão presentes em até 30% dos casos de raiva, pois certas cepas do vírus não produzem corpúsculos de inclusão. Sua presença e concentração dependem amplamente do estágio e curso da doença e da cepa e concentração do vírus (Braund et al. 1987, Jubb & Huxtable 1993, Storts 1998).

O diagnóstico definitivo da raiva é laboratorial, já que não existem sinais clínicos ou lesões *post-mortem* que possam ser consideradas patognomônicas (Correa & Correa 1992). Segundo a Office International des Epizooties (2001), o teste de imunofluorescência direta (IFD) é o mais utilizado, por ser mais rápido e por propiciar resultados confiáveis em 90% a 99% dos casos. Apesar de o teste biológico de inoculação intracerebral em camundongos (ICC) ser mais sensível, o tempo necessário para a realização do diagnóstico é maior (21-30 dias), portanto, a ICC é realizada concomitantemente com a IFD, como método complementar e confirmatório do diagnóstico. No entanto, resultados discrepantes entre as duas provas são descritos

freqüentemente (Gomes 2004, Lemos 2005, Lima et al. 2005) e, dependendo da localização das lesões e das amostras analisadas, ambos diagnósticos podem apresentar-se negativos em casos de raiva (Silva et al. 1974). Esses fatos nos alertam sobre a importância de conhecer a localização das lesões no sistema nervoso da espécie afetada, visando à minimização de erros de diagnóstico.

Considerando-se o efetivo caprino da região, o tipo de criação predominante, a inexistência da prática de vacinação anti-rábica, associados ao fato da raiva ser endêmica no semi-árido nordestino, necessário se faz conhecer melhor a possibilidade de infecção pelo vírus rábico isolado de morcegos insetívoros, comumente encontrados nas instalações urbanas e rurais e freqüentemente diagnosticados positivos. Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivos: verificar a suscetibilidade de caprinos ao vírus rábico isolado de morcego insetívoro (*Molossus molossus*), bem como registrar o período de incubação do vírus em caprinos infectados por via intramuscular, determinar os principais sinais e sintomas e os aspectos histopatológicos, através da localização das lesões histológicas no sistema nervoso central, visando subsidiar o diagnóstico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais- Foram utilizados nove caprinos da raça Moxotó, fêmeas, com faixa etária de 3-5 meses de idade. Seis animais foram infectados experimentalmente, três por inoculação no músculo masseter no lado direito, três por inoculação no músculo glúteo direito e três não foram infectados e compuseram o grupo controle. Estes foram separados por grupos e mantidos em baias, por um período de observação de 210 dias. Após o aparecimento dos primeiros sinais clínicos, os animais foram avaliados clinicamente, segundo a metodologia descrita por Riet-Correa et al. (2002).

Vírus- Para a infecção experimental foi utilizada a amostra M1 (V990, GenBank AY 962088) de vírus rábico isolada de morcego insetívoro da espécie *Molossus molossus*. A amostra foi reativada mediante passagem em camundongos por via intracerebral, após o que, foi preparada uma suspensão a 10% p/v com os cérebros dos camundongos em diluente, antes de ser inoculada nos animais e diluída para titulação.

Titulação do vírus- A amostra M1 do vírus da raiva, foi titulada em diluições seriadas de 10^{-2} a 10^{-5} em PBS (solução salina tamponada) e inoculado intracerebralmente,

0,03ml, em camundongos. O título de vírus foi calculado de acordo com o método descrito por Reed & Muench (1938), com ligeira modificação, descrita por Meslin (1996).

Imunofluorescência Direta (IFD)- Para a pesquisa do antígeno rábico foi realizada a IFD, utilizando porções do cérebro: córtex (frontal, temporal, parietal e occipital), hipocampo, tálamo, ponte, bulbo, núcleos da base, cerebelo, pedúnculos cerebelares, porções da medula (cervical, torácica, lombar e sacral) e glândulas salivares parótidas dos caprinos, de acordo com o método descrito por Goldwasser & Kissling (1958), com ligeira modificação, descrita por Dean et al. (1996).

Inoculação intracerebral em camundongos (ICC)- A ICC foi realizada em camundongos, adultos-jovens (21 a 28 dias), com 0,03 ml de inócuos variados. Os inócuos consistiram de uma suspensão a 20% (p/v) de porções do cérebro: córtex (frontal, temporal, parietal e occipital), hipocampo, tálamo, ponte, bulbo, núcleos da base, cerebelo, pedúnculos cerebelares, porções da medula (cervical, torácica, lombar e sacral) e glândulas salivares parótidas dos animais infectados. Os animais inoculados foram observados por períodos variando de 21 a 30 dias, conforme a metodologia descrita por Koprowski (1996).

Histopatologia- A histopatologia foi realizada com fragmentos do encéfalo e porções da medula que após a necropsia foram fixados em formol tamponado a 20%. Uma vez fixado, o material foi embebido em parafina, cortado em seções de 5 µm e corado com hematoxilina-eosina (Prophet 1996). O sistema nervoso central foi cortado transversalmente em fatias de 3 a 5 mm de espessura, contemplando as seguintes regiões para estudo histológico: córtex (frontal, temporal, parietal e occipital), hipocampo, tálamo, ponte, bulbo, núcleos da base, cerebelo, pedúnculos cerebelares e porções da medula (cervical, torácica, lombar e sacral). Em cada um dos fragmentos coletados foram avaliadas as seguintes lesões: acúmulo perivascular de células linfocitárias, leptomeningite, gliose focal, multifocal ou difusa e corpúsculos de Negri, classificando-as como, discretas (+), moderadas (++) e acentuadas (+++).

RESULTADOS

O título encontrado para a amostra inoculada após sua primeira passagem em camundongos de 21 dias foi de $10^{3,59}$ / 0,03 mL por via intracerebral.

Durante o período de observação, três animais dos que foram infectados adoeceram e morreram (Caprino 1, Caprino 2 e Caprino 3) e um manifestou sintomatologia nervosa (Caprino 4) que pode ser associada a raiva, embora o mesmo tenha aparentemente se recuperado, fato este que induziu o aumento do período de observação dos animais que extrapolaram o período pré-determinado. A frequência dos diferentes sinais clínicos observados estão apresentados em valor absoluto e em percentual no Quadro 1.

O Caprino 1, pertencia ao grupo que foi inoculado no masseter, e começou a apresentar sintomatologia característica 18 dias após a infecção, dentre os quais fasciculações e prurido contínuo no masseter no lado da inoculação, desidratação leve no início evoluindo para grave, apatia, movimentos laterais da cabeça, rotação da cabeça, tremores da cabeça (de intenção), mudanças de atitude, diminuição do reflexo da deglutição evoluindo para ausência, movimentos mastigatórios (trismo mandibular), anorexia, arqueamento dorsal, perda do equilíbrio, incoordenação, ataxia, paresia e/ou paralisia dos membros torácicos e pélvicos, salivação e diarreia. Aos 20 dias entrou em decúbito lateral direito, apresentando movimentos de pedalagem e opistótono. Ao receber apoio para ficar em estação, apresentou ataxia, movimentos laterais da cabeça, não conseguindo ficar em estação. Apresentou também timpanismo, berros contínuos, diminuição do reflexo auricular, diminuição do reflexo pupilar, diminuição da sensibilidade facial e midríase. Morrendo 22 dias pós-inoculação.

O Caprino 2, pertencia ao grupo que foi inoculado no masseter e manifestou os primeiros sinais 40 dias após a infecção, dentre os quais tremores musculares, desidratação de leve a grave, apatia, anorexia, arqueamento dorsal, salivação, incoordenação, ataxia, mudanças de atitude, tiques nervosos, tremores musculares, quedas repentinas, dificuldade para se manter em estação, diminuição do reflexo de deglutição, trismo mandibular, rotação da cabeça, orelhas eretas, berros contínuos, perda do equilíbrio, paresia dos membros pélvicos e claudicação. Aos 45 dias entrou em decúbito esternal, seguido de decúbito lateral aos 46 dias, movimentos de pedalagem, opistótono, timpanismo, diminuição do reflexo auricular e paresia e/ou paralisia dos membros pélvicos. Morrendo aos 47 dias.

O Caprino 3 pertencia ao grupo que foi inoculado no glúteo e manifestou os primeiros sinais 44 dias após a infecção, dentre os quais tremores musculares, apatia e anorexia, desidratação, apatia, anorexia, salivação, ataxia e tremores musculares, acrescido de dificuldade para se manter em estação, incoordenação, rotação da cabeça, tremores de intenção (da cabeça), orelhas eretas, berros contínuos, perda do equilíbrio e paresia dos membros pélvicos. Aos 48 dias, entrou em decúbito lateral direito, apresentava movimentos de pedalagem, desidratação grave, salivação profusa, opistótono, timpanismo e paresia e/ou paralisia dos membros pélvicos, morrendo 49 dias após a inoculação.

Na necropsia, foi observado edema pulmonar, congestão cerebral e distensão da bexiga. Outros achados sem significação para o diagnóstico, como enfisema pulmonar, hidrotórax e hidroperitônio e hidropericárdio também foram observados.

Os três animais mostraram-se positivos para raiva pelas provas de IFD e ICC. Entretanto, apenas o Caprino 1, apresentou-se positivo em todos os fragmentos estudados em ambas as provas. O Caprino 2, na IFD, mostrou-se positivo nos fragmentos de medula (cervical, torácica, lombar e sacral), córtex occipital e cerebelo, enquanto que na prova biológica, só foi possível o isolamento nas medulas cervical e sacral, córtex frontal e cerebelo. O Caprino 3, que na IFD apresentou-se positivo nos fragmentos de medula torácica e sacral, ponte e núcleos da base, na ICC, apresentou resultados positivos apenas para os fragmentos de medula torácica e sacral. Os resultados da pesquisa do antígeno rábico através da IFD e da prova biológica, estão detalhados nos Quadros 2 e 3, respectivamente.

Quanto à intensidade dos sinais clínicos da raiva referentes a diferentes regiões do SNC dos caprinos, estão descritos no Quadro 4.

Na histopatologia os achados foram caracterizados por lesões inflamatórias: acúmulo perivascular de células mononucleares, gliose focal, multifocal ou difusa, meningite não supurativa e por corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos, descrito no Quadro 5.

No córtex occipital, observou-se presença de manguitos perivasculares e vasculite multifocal acentuada com infiltrado inflamatório composto principalmente por linfócitos, plasmócitos e raros histiócitos, congestão de vasos e poucos corpúsculos de inclusão. Havia também, meningite discreta multifocal com vasculite e infiltrado inflamatório mononuclear. No córtex temporal foram observadas as mesmas lesões,

porém em intensidade moderada enquanto que nos outros cortes de córtex (parietal e frontal), as lesões apresentadas foram discretas.

No hipocampo, foram observados manguitos e vasculite moderada multifocal com infiltrado mononuclear, este infiltrado se estendia às áreas adjacentes no neurópilo e também formava focos no neurópilo, alguns em volta de neurônios.

No cerebelo, observaram-se vasculite multifocal acentuada, pequenos focos de hemorragia, vacuolização na substância branca da medula cerebelar e múltiplos focos de inflamação no neurópilo com áreas de malácia. Nas células de Purkinje havia grande quantidade de inclusões eosinofílicas intracitoplasmáticas de tamanhos variados. Havia também vacúolos intracitoplasmáticos nas células de Purkinje e na substância molecular adjacente. Na meninge foi observada, meningite moderada multifocal não supurativa e congestão acentuada dos vasos das leptomeninges.

As lesões observadas no tronco encefálico foram vasculite acentuada e manguitos multifocais, alguns focos de células inflamatórias mononucleares circundando neurônios com neuroniofagia e raras inclusões intracitoplasmáticas, variando o grau de intensidade, que na região da ponte era moderado, já na região do bulbo as lesões encontradas foram discretas.

Em todos os corte de medula (cervical, torácica, lombar e sacral), as lesões foram semelhantes e caracterizavam-se por vasculite moderada e manguitos multifocais, com infiltrado inflamatório mononuclear adjacente às áreas de vasculite, com neuroniofagia e raras inclusões. Na substância branca havia vacuolização (desmielinização) e discretos focos de meningite não supurativa.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A raiva em caprinos e ovinos, apesar de menos freqüente quando comparada à freqüência em bovinos, que é elevada na região semi-árida, sendo não só a principal doença do sistema nervoso, mas a mais freqüentemente diagnosticada dentre todas as enfermidades (Lima et al. 2005), fato este que não diminui a importância destas espécies na cadeia de transmissão do vírus rábico, uma vez que, tanto caprinos como ovinos, são susceptíveis à infecção experimental (Baltazar et al. 1988, Baltazar et al. 1992, Oliveira et al. 2002, Gomes et al. 2005).

Com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se afirmar que a amostra de vírus rábico de morcego insetívoro M1 (V990, GenBank AY 962088) apresentou comportamento biológico compatível com o genótipo I da espécie *Rabies virus*.

patogênica para caprinos, matando três (50%) dos seis animais infectados. Gomes et al. (2005) em trabalho semelhante com caprinos e ovinos encontrou 100% de suscetibilidade, analisando amostra oriunda de raposas *Dusicyon vetulus*, entretanto Baltazar et al. (1988), observaram apenas um ovino doente (10%) entre dez inoculados na musculatura do masseter.

O período de incubação de 18 dias do Caprino 1 é semelhante as observações de outros autores (Pépin et al. 1984, Baltazar et al. 1988, Baltazar et al. 1992, Gomes et al. 2005). Com relação ao Caprino 1 observou-se uma curta duração dos sintomas até a morte (96 horas), resultado similar foi encontrado por Gomes et al. (2005) onde caprinos e ovinos inoculados por via intramuscular apresentaram duração clínica de 1 a 5 dias.

Os Caprinos 2 e 3 apresentaram período de incubação de 40 a 44 dias, respectivamente, dados semelhantes foram observados por Oliveira et al. (2002) ao analisar amostras oriundas de raposas, onde uma das amostras apresentou período de incubação variando de 30 a 40 dias. Baltazar et al. (1992) ao analisarem amostras oriundas de cães, encontraram período de incubação de 40 dias em alguns dos ovinos inoculados. Pépin et al. (1984) relataram que em bovinos inoculados na musculatura do masseter com amostra originada de raposa, o período de incubação variou entre 14 e 26 dias, sem relação significativa com o título do vírus. Entretanto, a evolução clínica de ambos, entre 6 e 8 dias, foi similar a encontrada por Baltazar et al. (1988) que desafiou um ovino no masseter com um vírus originado de morcego insetívoro *Epitesicus serotinus* tendo o mesmo morrido após oito dias de sintomas. Todavia, o curso clínico da raiva, geralmente é de 1 a 7 dias, e em poucas ocasiões ultrapassa esse tempo (Pitzschke 1988).

O tempo de incubação é muito variável, sendo mais comum aparecerem os primeiros sinais entre 30-90 dias após a infecção (Correa & Correa 1992). No entanto, já foram observados e documentados casos naturais de raiva cujo estado patente se desenvolveu em períodos tão curtos como 14 dias e tão longos como 18 meses (Correa & Correa 1992). Variando em função da quantidade de vírus que penetrou no animal, do tipo de vírus, do local de penetração e da área da mordedura e da adaptação das amostras ao sistema biológico utilizado (Germano et al. 1988).

Às provas de IFD e ICC mostraram-se positivas para o sistema nervoso central dos três animais que morreram, entretanto houve discrepância nos resultados entre as duas provas, com exceção do Caprino 1, que apresentou resultados positivos em todos

os fragmentos analisados em ambas as provas. Resultados discrepantes entre as duas provas foram relatados recentemente (Peixoto et al. 2000, Gomes 2004, Lemos 2005, Lima et al. 2005) e, dependendo da localização das lesões e da amostra analisada, ambos diagnósticos podem ser negativos em casos de raiva; Silva et al. (1974) obtiveram resultados positivos no bulbo de um equino e na medula de outro, enquanto que amostras de corno de Ammon, córtex e cerebelo foram negativas para as duas provas, fato este que denota a importância de conhecer a localização das lesões no sistema nervoso da espécie afetada, para realizar as provas de diagnóstico com menor margem de erro. Algumas espécies, como os carnívoros, tendem a apresentar reações inflamatórias acentuadas, quando comparadas com outras espécies, como os herbívoros, nos quais pode ocorrer pouca ou nenhuma reação inflamatória (Storts 1998).

A presença do vírus rábico em tecidos extraneurais é resultante da disseminação viral no SNC, pois, há movimento simultâneo centrífugo, em sentido periférico, do vírus através de axônios, resultando na infecção de vários tecidos extraneurais, incluindo os da cavidade oral e das glândulas salivares, permitindo a transmissão da doença pela saliva (Storts 1998). O isolamento do vírus a partir de emulsões da parótida confirma a presença do vírus em outros órgãos além do sistema nervoso o que condiz com trabalhos anteriores (Silva & Souza 1968, Baltazar et al. 1988, Baltazar et al. 1992).

Dentre os achados clínicos encontrados nos animais inoculados, destacaram-se os sinais de apatia, anorexia, prurido no local da inoculação, ataxia, perda de equilíbrio, incoordenação, rotação da cabeça, fasciculações musculares, sialorréia, decúbito lateral, movimentos de pedalagem, paresia e paralisia do trem posterior, evidenciando a forma paralítica da doença e que já foram descritos em trabalhos realizados experimentalmente em bovinos e ovinos (Martell et al. 1974, Pépin et al. 1984, Baltazar et al. 1988, Baltazar et al. 1992, Oliveira et al. 2001, Oliveira et al. 2002, Gomes et al. 2005). No entanto, houve um animal, que apresentou tiques nervosos, excitação, quedas repentinas, que são característicos da forma furiosa da raiva, achados semelhantes são descritos por Gomes et al (2005) em um caprino que desenvolveu a forma furiosa da doença. Devido à diversidade dos sinais clínicos e a exacerbação ou omissão de algumas fases em algumas espécies, diz-se que a raiva pode cursar com a forma furiosa ou paralítica, embora, em muitos casos, as mesmas não possam ser diferenciadas (Fernandes 2003).

Os sinais clínicos predominantes foram da forma parálitica, e nos três casos os animais apresentaram sinais de lesões da medula, associados a sinais de lesões do tronco encefálico, cerebelo e cérebro em graus variáveis, de acordo com dados observados por Langohr et al. (2003) e Lima et al. (2005). A variabilidade de sinais clínicos pode ser determinada pelo título de vírus no inócuo, pela patogenicidade da cepa viral, pela proximidade entre o local de inoculação e o encéfalo e pelo estado imune do animal (Jubb & Huxtable 1993). Essa grande diversidade de sinais clínicos corrobora as dificuldades existentes para o diagnóstico clínico, o que torna o diagnóstico laboratorial indispensável, nos casos suspeitos de raiva. Frequentemente, o quadro clínico característico é o de paralisia progressiva com sinais preferentemente medulares e comprometimento variável do tronco encefálico. No entanto, alguns animais podem mostrar sinais preferentemente cerebrais, semelhantes aos de outras doenças que afetam o SNC (Lima et al. 2005). Porém lesões multifocais sugerem doença infecciosa (Fernandes 2003), o que associado à alta frequência da raiva no Brasil, faz com que esta deva sempre ser considerada no diagnóstico diferencial das doenças do SNC com curso agudo ou subagudo.

Outros achados, tais como mudanças de atitude, diminuição do reflexo de deglutição, trismo mandibular, opistótono, tremores de intenção (da cabeça) e arqueamento dorsal foram encontrados em quase todos os animais inoculados. Embora possa ocorrer em caprinos, sinais de indigestão onde os animais deixam de comer apresentam atonia do rúmen, timpanismo ou também diarreia (Pitzschke 1988), esses achados não foram regra, e alguns deles não foram observados neste experimento.

Macroscopicamente, a lesão associada à raiva foi à bexiga distendida, que ocorre devido às lesões localizadas na região sacral da medula espinhal. Lesões mencionadas por outros autores, como a pneumonia por aspiração e a presença de corpos estranhos no estômago ou ferimentos por automutilação não foram observadas (Riet-Correa et al. 1983, Swanepoel 1994, Mori et al. 2005, Lemos 2005, Lima et al. 2005).

Os achados histopatológicos foram caracterizados por acúmulos perivasculares de células mononucleares, meningite não supurativa e corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos, caracterizando um quadro de meningoencefalomielite não supurativa multifocal, que é característico da raiva. Foram observadas lesões degenerativas com vacúolos intracitoplasmáticos em áreas do cerebelo, inclusive nas células de Purkinje e em diversas áreas do tronco encefálico. Charlton et al. (1984) foi o primeiro a descrever lesões vacuolares associadas à raiva, desde então, esse tipo de

lesão tem sido relatada em animais naturalmente e experimentalmente infectados, ocorrendo no neurópilo da substância cinzenta, principalmente na região do tálamo e no córtex cerebral. Desenvolvem-se inicialmente como vacúolos intracitoplasmáticos envoltos por membranas nos dendritos de neurônios, que ao aumentarem de tamanho, vão comprimindo o tecido adjacente, onde após o seu rompimento formam um espaço entre os tecidos (Storts 1998). Necrose neuronal, acompanhada de neuroniofagia, achado comum nos casos de raiva, também foi observada (Coelho 2002). Achados semelhantes são descritos por Lima et al. (2005) em eqüinos, ao descrever as lesões histológicas apresentadas por herbívoros naturalmente infectados, no qual foi sugerido, que as lesões da raiva seriam mais graves em eqüinos do que nos ruminantes. A presença de lesões degenerativas e necróticas, nesse caso em particular, ratificam que a raiva é uma doença difusa do SNC, com distribuição das lesões e sinais clínicos variáveis, que acomete todas as espécies de mamíferos com graus variáveis de severidade, embora não haja um padrão pré-determinado.

Em relação à distribuição dos corpúsculos de inclusão, eles foram observados com maior freqüência e intensidade no cerebelo, em tamanhos variados, o que confirma observações anteriores que mencionam a maior freqüência de corpúsculos de inclusão nesta região (Langohr et al. 2003, Lima et al. 2005), entretanto, foram observados em áreas com reação inflamatória variando de acentuada a moderada, o que difere de resultados mencionados em outros trabalhos (Braund et al. 1987, Jubb & Huxtable 1993, Langohr et al. 2003, Lima et al. 2005) O tamanho e número dos corpúsculos no pericário dos neurônios variaram bastante, sendo que, quanto mais corpúsculos numa célula, menor o seu tamanho. No tronco encefálico, na região da ponte a freqüência foi moderada, já na região do bulbo foi bastante discreta. Raras inclusões também foram observadas em todos os fragmentos da medula espinhal (cervical, torácica, lombar e sacral) e nos fragmentos de córtex occipital. Lima et al. (2005) descreve a presença de corpúsculos de inclusão apenas no cerebelo de caprinos naturalmente infectados, todavia, ao analisar amostras de bovinos os resultados são similares, estando os corpúsculos presentes no cerebelo, ponte, bulbo e tubérculo quadrigêmio anterior. Esses resultados sugerem que, apesar do cerebelo ser a região recomendada para a pesquisa do antígeno rábico, em herbívoros, através da imunofluorescência direta, amostras de outras regiões do SNC devem ser analisadas no diagnóstico da raiva, visando minimizar os erros de diagnóstico.

Para se estabelecer medidas de controle, torna-se essencial conhecer melhor o papel desempenhado pelas diferentes espécies envolvidas na manutenção do vírus da raiva na natureza. Sendo o estudo da epidemiologia da doença de vital importância, para o melhor conhecimento dos focos naturais dessa zoonose, permitindo estabelecer melhor os fatores de risco existentes em determinados ecossistemas e as formas de circulação do agente entre as diversas espécies de animais de forma a subsidiar as ações dos serviços de Saúde Pública Veterinária.

Por ser endêmica no semi-árido nordestino, a vigilância epidemiológica passiva dos casos de raiva, torna-se fundamental, para que a informação seja enviada adequadamente às autoridades sanitárias responsáveis e a adoção das medidas adequadas sejam iniciadas o mais rápido possível, no entanto, para que essa interação com a população seja eficiente há a necessidade de incrementar a educação em saúde e a transmissão do conhecimento a cerca da doença para os habitantes das regiões afetadas. O incentivo a prática de vacinação dos animais domésticos, dentre eles, os pequenos ruminantes, com certeza, contribuirá para a diminuição da incidência da doença, evitando desta forma prejuízos econômicos.

Os caprinos mostraram-se susceptíveis a amostra de vírus rábico isolada de morcegos insetívoros *Molossus molossus*, apresentando período de incubação e sintomatologia compatíveis com o vírus clássico da raiva. Os achados histopatológicos foram caracterizados por meningoencefalomielite não supurativa multifocal, sugerindo que diferentes amostras do SNC devam ser analisadas no diagnóstico da raiva e que o estudo histológico sempre que possível deve ser associado a imunofluorescência direta e a inoculação intracerebral em camundongos.

REFERÊNCIAS

- Acha P.N. & Szyfres B. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª ed. Organización Panamericana de Salud, Washington, DC., p.502-526.
- Baltazar S., Artois M. & Blancou J. 1992. Experimental infection of sheep with a rabies virus of canine origin: study of the pathogenicity for that species. Rev. Sci. Tech. 11(3):829-836.

- Baltazar R. S., Blancou J. & Artois M. 1988. Étude du virus de la rage isolé d'une chauve-souris européenne "*Eptesicus serotinus*": pouvoir pathogène pour les ovins et le renard roux. *Revue Méd. Vet.* 139(7):615-621.
- Bernardi F., Nadin-Davis S.A., Wandeler A.I., Armstrong J., Gomes A.A.B., Lima F. S., Nogueira F.R.B. & Ito F.H. 2005. Antigenic and genetic characterization of rabies viruses isolated from domestic and wild animals of Brazil identifies the hoary fox as a rabies reservoir. *J. Gen. Virol.* (86):3153-3162.
- Borges C.H.P. 1998. Caracterização das populações canina e felina da zona urbana de Lençóis Paulista –SP, visando o controle da raiva. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo.
- Braund K.G., Brewer B.D. & Mayhew I.G. 1987. Inflammatory, infectious, immune, parasitic and vascular diseases, p. 266-254. In: Oliver J.E., Horlein B.F. & Mayhew I.G. *Veterinary Neurology*. W. B. Saunders, Philadelphia.
- Charlton K.M., Casey G.A. & Webster W.A. 1984. Rabies virus in salivary glands and nasal mucosa of naturally infected skunks. *Can. J. Comp. Med.* 48(3):338-339.
- Coelho H.E. 2002. Sistema Nervoso Central. *Patologia Veterinária*. 1ªed. São Paulo: Manole. p.158-163.
- Correa W.M. & Correa C.N.M.1992. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2ªed., Rio de Janeiro: Medsi, p.609-628.
- Dean D.J., Abelseth M.K. & Atanasiu P. 1996. The fluorescent antibody test. In: Melsin F.X., Kaplan M.M. & Koprowski H. *Laboratory techniques in rabies*. 4ªed. Geneva: World Health Organization. p.88-95.
- Fernandes C.G. 2003. Raiva, 149-162. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Nendez M.D.C. & Lemos R.A.A. *Doenças de ruminantes e eqüinos*. 2ªed. São Paulo: Varela. v.1.
- Germano P.M.L., Miguel O., Ishizuka M.M. & Silva E.V. 1988. Avaliação de três cepas de vírus rábico antigenicamente distintas, em camundongos. I. Estudo dos períodos de observação clínica. *Rev. Saúde Pública, São Paulo.* 22:375-383.
- Goldwasser R.A. & Kissling R.E. 1958. Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 98:219-223.
- Gomes A.A.B., Bernardi F., Oliveira A.G.F., Ito F.H., Maiorka P.C., Soares R.M., Heinemann M.B., Cortez A. & Richtzenhain L.J. 2005. Raiva experimental em caprinos e ovinos inoculados com uma amostra de vírus isolada de raposa (*Dusicyon vetulus*). *Ciênc. Vet. Trop., Recife-PE.* 8(1/2/3):29-34.

- Gomes A.A.B. 2004. Epidemiologia da raiva: caracterização de vírus isolados de animais domésticos e silvestres do semi-árido paraibano da região de Patos, Nordeste do Brasil. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 107p.
- Gomes A.A.B., Bernardi F., Nadin-Davis S., Wandeler A.I., Sakai T., Itou T., Lima F.S., Nogueira F.R.B. & Ito F.H. 2004. Raiva na região semi-árida de Patos, Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Anais. XXXI Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, São Luis.
- Gomes A.A.B., Alves C.J., Lima F.S., Batista C.S.A., Araújo Neto J.O., Pignata W.A., Tavares M.A.S., Freitas T.D. & Clementino I.J. 2003. Raiva em morcegos insetívoros (*Molossus molossus*) no Nordeste do Brasil. Anais. 5º Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, Recife, p.342-343.
- Guedes K.M.R., Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Simões S.V.D., Miranda Neto E.G., Nobre V.M.T. & Medeiros R.M.T. 2007. Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. Pesq. Vet. Bras. 27(1):29-38.
- Hudson L.C., Weinstock D., Jordan T. et al. 1996. Clinical features of experimentally induced rabies in cattle and sheep. J. Vet. Med. B, 43(2):85-95.
- Jones T.C., Hunt R.D. & King N.W. 2000. Patologia veterinária. 6ªed. São Paulo: Manole. 1415p.
- Jubb K.V.F. & Huxtable C.R. 1993. The nervous system. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. Pathology of domestic animals. 4ªed.: Academic Press, San Diego, v.1., 780p.
- Koprowski H. 1996. The mouse inoculation test, p. 80-87. In: Meslin F.X., Kaplan M.M. & Koprowski H. Laboratory techniques in rabies. 4ªed. Geneva, World Health Organization.
- Langohr I.M., Irigoyen L.F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2003. Aspectos epidemiológicos e clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. Ciência Rural 33(1):125-131.
- Lima E.F., Riet-Correa F., Castro R.S., Gomes A.A.B. & Lima F.S. 2005. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. Pesq. Vet. Bras. 25(4):250-264.
- Lemos R.A.A. 2005. Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões centro-oeste e sudeste do Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 155p.

- Martell M.A., Di Batalla C., Baer G.M. & Benignos Y Acuna J. 1974. Experimental bovine paralytic rabies - derriengue. *Vet. Rec.* 95:527-530.
- Meslin F.X., Kaplan M.M. & Koprowsky H. 1996. *Laboratory Techniques in Rabies*, 4th ed., WHO, Geneva. 476 p.
- Ministério da Saúde. 2005 Fundação Nacional de Saúde. Raiva humana: Saúde ajuda autoridades do Pará a conter surto. 2005. Nota técnica – 14/06/2005 Brasília. <http://www.saude.gov.br/svs/destaques/raiva/htm> Acesso em 23/11/2006.
- Ministério da Saúde. 2004a. Fundação Nacional de Saúde. Raiva humana transmitida por morcegos no Estado do Pará. 2004. Nota técnica – 02/04/2004 Brasília. <http://www.saude.gov.br/svs/destaques/raiva/htm> Acesso em 23/11/2006.
- Ministério da Saúde. 2004b Fundação Nacional de Saúde. Raiva humana transmitida por morcegos no Estado do Pará 2. 2004 Nota técnica – 06/04/2004 Brasília. <http://www.saude.gov.br/svs/destaques/raiva/htm> Acesso em 23/11/2006.
- Ministério da Saúde. 2004c Fundação Nacional de Saúde. Raiva humana transmitida por morcegos em municípios do Estado do Pará. 2004. Nota técnica – 20/05/2004 Brasília. <http://www.saude.gov.br/svs/destaques/raiva/htm> Acesso em 23/11/2006.
- Mori A., Carvalho M.I.R.P.R., Tahara V.H., Hirch C. & Souza M.L.O. 2005. Controle da raiva urbana em cães para o controle da raiva em humanos. 2005. http://www.editora.ufla.br/Boletim/pdfextensao/bol_80.pdf Acesso em: 23/07/2005.
- Nociti D.L.P., Caramori Júnior J.G., Jesus L.P., Samara S.I. & Araújo Junior A. 2003. Anticorpos contra o vírus rábico em seres humanos com atividades no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso. Cuiabá, MT, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 36(3):355-358.
- Office International des Epizooties (OIE). 2001. *Internacional Animal Health Code. Diagnostics & vaccines. Manual of standars. Chapter 3.1.5 – Rabies.* http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_00039.htm. Acesso em: 24 /08/2001.
- Oliveira A.G.F., Clementino I.J., Freitas T.D., Alves C.J. & Gomes A.A.B. 2001. Comportamento biológico de amostras de vírus rábico isoladas de raposa (*Dusicyon vetulus*), da região do semi-árido do Brasil. In: XXVIII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Salvador-BA.
- Oliveira A.G.F., Alves C.J., Gomes A.A.B., Clementino I.J., Freitas T.D., Nogueira F.R.B. & Acosta A.A.A. 2002. Comportamento biológico de amostras de vírus rábico isoladas de raposa (*Dusicyon vetulus*) do semi-árido Brasileiro. In: X Encontro de Iniciação Científica da UFPB. João Pessoa-PB.

- Peixoto Z.M.P., Cunha E.M.S., Sacramento D.R.V., Conceição M., Souza A.M., Da Silva L.H.Q., Germano P.L., Kroeff S.S. & Kotait I. 2000. Rabies laboratory diagnosis: peculiar features of samples from equine origin. *Braz. J. Microbiol.* 31(1):72-75.
- Pépin M., Blancou J. & Aubert M.F.A. 1984. Rage expérimentale des bovins: sensibilité, symptômes, réactions immunitaires humorales, lésions et excrétion du virus. *Annales de Recherches Vétérinaires.* 15(3):325-333.
- Pitzschke H.N. 1988. *Lyssavirus*, p.168-177. In: Beer J.: *Doenças infecciosas em animais domésticos*. Vol. 1, São Paulo: Roca.
- Prophet E.B., Millis B., Arrington J.B. & Sobin L. H. 1996. *Laboratory Methods in Histotechnology*. Armed Forces Instituto of Pathology, Washington, 279 p.
- Reed L.J., Muench H. 1938. A simple method of estimating fifty percent endpoints *American Journal of Hygiene.* 27(3):493-497.
- Riet-Correa F., Riet-Correa G. & Schild A.L. 2002. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e eqüídeos. *Pesq. Vet. Bras.* 22(4):161-168.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Mendez M.C., Oliveira J.A., Gil-Turnes C. & Goncalves A. 1983. Relatório das atividades e doenças da área de influência no período de 1978-1982. Laboratório Regional de Diagnóstico. Editora e Gráfica Universitária, Pelotas, 98 p.
- Rondon E.S., Bastos P.V., Silva D.A. & Piccinini R.S. 1995. Estudo comparativo da sintomatologia clínica de bovinos suspeitos de raiva. *Rev. Bras. Med. Vet.* 17(6):253-256.
- Shoji Y., Kobayashi Y., Sato G., Gomes A.A.B., Itou T., Ito F.H., Sakai T. 2006 Genetic and phylogenetic characterization of rabies virus isolates from wildlife and livestock in Paraíba, Brazil. *Acta Virol.* 50(1):33-37.
- Silva R.A., Silva N.M. & Meneses, P.R.V. 1974. Ocorrência do vírus da raiva na medula e bulbo de eqüinos na doença natural e sua ausência nas diferentes regiões do sistema nervoso central e outros tecidos. *Pesq. Agropeq. Bras. Sér. Vet.*, 9:29-31.
- Silva R.A. & Souza A.M. 1968. Ocorrência do vírus da raiva em diferentes tecidos de cão na doença natural. Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul. *Boletim Técnico* v.3. n.57.
- Storts R.W. 1998. Sistema nervoso central. In: Carlton W.W. & Mcgavin M.D. *Patologia Veterinária Especial*. 2ªed. Porto Alegre: ArtMed, 353-416.

Swanepoel R. 1994. Rabies, 392-400. In: Coetzer J.A.W., Thomson F.R. & Tustin R.C. Infections Diseases of Livestock, with special reference to Southern Africa. Cape Town: Oxford University. v.1.

World Health Organization (WHO) 1993. Expert committee on rabies. Geneva. Eighth Report. Technical Report Series 824. 88 p.

Quadro 1 - Frequência dos diferentes sinais clínicos observados em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcegos (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007.

Sinais Clínicos	Caprino 1 ^a	Caprino 2 ^a	Caprino 3 ^b	%
Cérebro				
Anorexia	+	+	+	100
Apatia	+	+	+	100
Depressão	+	+	+	100
Movimentos de pedalagem	+	+	+	100
Mudanças de atitude	+	+	-	66,7
Tiques nervosos	-	+	-	33,3
Tronco encefálico				
Ataxia	+	+	+	100
Diminuição do reflexo pupilar	+	-	-	33,3
Dificuldade de deglutição	+	+	-	66,7
Diminuição da sensibilidade facial	+	-	-	33,3
Diminuição do reflexo auricular	+	+	-	66,7
Pupilas dilatadas (midríase)	+	-	-	33,3
Rotação da cabeça	+	+	+	100
Sialorréia	+	+	+	100
Trismo mandibular	+	+	-	66,7
Cerebelo				
Opistótono	+	+	-	66,7
Perda de equilíbrio	+	+	+	100
Tremores da cabeça (de intenção)	+	-	+	66,7
Tremores musculares	+	+	+	100
Medula espinhal				
Arqueamento dorsal	+	+	-	66,7
Claudicação	-	+	-	33,3
Decúbito esternal	-	+	-	33,3
Decúbito lateral	+	+	+	100
Incoordenação	+	+	+	100
Paralisia de membros torácicos	+	-	-	33,3
Paresia dos membros torácicos	+	-	-	33,3
Paralisia dos membros pélvicos	+	+	+	100
Paresia de membros pélvicos	+	+	+	100

^a Caprino inoculado no masseter

^b Caprino inoculado no glúteo

Quadro 2 - Presença de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos no SNC, detectados através da Imunofluorescência Direta em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcegos insetívoros (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007.

ANIMAIS	CF	CP	CT	CO	NB	TL	HC	PT	CE	PC	BL	MC	MT	ML	MS
Caprino 1^a	+	+	++	+++	++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	++	++	++
Caprino 2^a	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+++	+	+	++
Caprino 3^b	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	++	-	+
TOTAL	1/3	1/3	1/3	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3	3/3	2/3	3/3

^I CF=córtex frontal, CP=córtex parietal, CT=córtex temporal, CO=córtex occipital, NB=núcleos da base, TL=tálamo, HC=hipocampo, PT=ponte, CE=cerebelo, PC=pedúnculos cerebelares, BL=bulbo, MC=medula cervical, MT=medula torácica, ML=medula lombar e MS=medula sacral.

^{II} - ausente, + discreta, ++ moderada e +++ acentuada.

^a Caprino inoculado no masseter

^b Caprino inoculado no glúteo

Quadro 3 - Confirmação através da Inoculação Intracerebral em Camundongos em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcegos insetívoros (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007.

ANIMAIS	CF	CP	CT	CO	NB	TL	HC	PT	CE	PC	BL	MC	MT	ML	MS
Caprino 1^a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Caprino 2^a	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+
Caprino 3^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
TOTAL	2/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	2/3	1/3	1/3	2/3	2/3	1/3	3/3

^I CF=córtex frontal, CP=córtex parietal, CT=córtex temporal, CO=córtex occipital, NB=núcleos da base, TL=tálamo, HC=hipocampo, PT=ponte, CE=cerebelo, PC=pedúnculos cerebelares, BL=bulbo, MC=medula cervical, MT=medula torácica, ML=medula lombar e MS=medula sacral.

^{II} - negativa, + positiva.

^a Caprino inoculado no masseter

^b Caprino inoculado no glúteo

Quadro 4 - Intensidade dos sinais clínicos de raiva referentes a diferentes regiões do SNC em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcegos insetívoros (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007.

ANIMAIS	Cérebro	Tronco encefálico	Cerebelo	Medula espinal
Caprino 1 ^a	+++	+++	+++	+++
Caprino 2 ^a	+++	++	+	+++
Caprino 3 ^b	++	+	+	+

^I - ausente, + discreta, ++ moderada e +++ acentuada.

^a Caprino inoculado no masseter

^b Caprino inoculado no glúteo

Quadro 5 - Distribuição e intensidade das lesões inflamatórias dos casos de raiva em caprinos inoculados experimentalmente com vírus rábico isolado de morcegos insetívoros (*M. molossus*), mantidos confinados no CSTR/UFCG – Patos-PB e observados no período de 09/07/2006 a 09/02/2007.

NATUREZA DAS LESÕES	CF	CP	CT	CO	NB	TL	HC	PT	CE	PC	BL	MC	MT	ML	MS
Infiltrado inflamatório	+	+	++	+++	+	+	++	+	+++	+	+	++	+	+	+
Manguitos perivasculares	+	+	++	+++	+	+	++	++	+++	+	+	++	++	+	+
Microgliose focal	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
Microgliose difusa	+	+	+	++	-	+	++	++	+	-	+	++	+	-	-
Degeneração e/ou necrose neuronal	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++	+	+	+	+	-
Neuroniofagia	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	+	++	+	+	+
Corpúsculos de Negri	-	-	-	+	+	+	+	++	++	+++	+	++	+	+	+
Hemorragia	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-

^I CF=córtex frontal, CP=córtex parietal, CT=córtex temporal, CO=córtex occipital, NB=núcleos da base, TL=tálamo, HC=hipocampo, PT=ponte, CE=cerebelo, PC=pedúnculos cerebelares, BL=bulbo, MC=medula cervical, MT=medula torácica, ML=medula lombar e MS=medula sacral.

^{II} - ausente, + discreta, ++ moderada e +++ acentuada.

^{III} - Cada grau atribuído representa a média das intensidades das alterações observadas nos cortes dos encéfalos e das medulas dos 03 caprinos examinados.

CONCLUSÕES

✓ Os caprinos mostraram-se susceptíveis a amostra de vírus rábico isolada de morcegos insetívoros *Molossus molossus*, apresentando período de incubação e sintomatologia compatíveis com o vírus clássico da raiva.

✓ Os achados histopatológicos foram caracterizados por meningoencefalomielite não supurativa multifocal, sugerindo que diferentes amostras do SNC devam ser analisadas no diagnóstico da raiva.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Brazilian Journal of Veterinary Research

- Objetivo e política editorial
- Apresentação de manuscritos

ISSN 0100-736X *versión impresa*

ISSN 1678-5150 *versión online*

Objetivo e política editorial

O objetivo da revista **Pesquisa Veterinária Brasileira** é contribuir, através da publicação dos resultados de pesquisa e sua disseminação, para a manutenção da saúde animal que depende, em grande parte, de conhecimentos sobre as medidas de profilaxia e controle veterinários.

Com periodicidade mensal, a revista publica trabalhos originais e artigos de revisão de pesquisa no campo da patologia veterinária no seu sentido amplo, principalmente sobre doenças de importância econômica e de interesse para a saúde pública.

Apesar de não serem aceitas comunicações ("Short communications") sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve porém conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo.

Os trabalhos, em 3 vias, escritos em português ou inglês, devem ser enviados, junto com disquete de arquivos (de preferência em Word 7.0), ao editor da revista **Pesquisa Veterinária Brasileira**, no endereço abaixo. Devem constituir-se de resultados ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, os editores, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias.

Apresentação de manuscritos

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em **Título, Abstract, Resumo, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões** (ou combinações destes três últimos), **Agradecimentos e Referências**:

a) o **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho;

b) um **Abstract**, um resumo em inglês, deverá ser apresentado com os elementos constituintes observados nos artigos em português, publicados no último número da revista, ficando em branco apenas a paginação, e, no final, terá indicação dos *index terms*;

c) o **Resumo** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, dando os mais importantes resultados e conclusões; será seguida da indicação dos termos de indexação; nos trabalhos em inglês, **Resumo** e **Abstract** trocam de posição e de constituição (veja-se como exemplo sempre o último fascículo da revista);

d) a **Introdução** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

e) em **Material e Métodos** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores;

f) em **Resultados** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos; quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições; é conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos, ao invés de apresentá-los em quadros extensos;

g) na **Discussão** os resultados devem ser discutidos diante da literatura; não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

h) as **Conclusões** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

i) os **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

j) a lista de **Referências**, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando os nomes de todos os autores, o título de cada publicação e, por extenso ou abreviado, o nome da revista ou obra, usando as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT, *Style*

Manual for Biological Journals (American Institute for Biological Sciences) e/ou *Bibliographic Guide for Editors and Authors* (American Chemical Society, Washington, D.C.).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as normas abaixo:

a) os trabalhos devem ser apresentados em uma só face do papel, em espaço duplo e com margens de, no mínimo, 2,5 cm; o texto será escrito corridamente; quadros serão feitos em folhas separadas, usando-se papel duplo ofício, se necessário, e anexados ao final do trabalho; as folhas, ordenadas em texto, legendas, quadros e figuras, serão numeradas seguidamente;

b) a redação dos trabalhos deve ser a mais concisa possível, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados um pouco acima da linha de escrita, após a palavra ou frase que motivou a nota; essa numeração será contínua; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada; todos os quadros e todas as figuras serão mencionados no texto; estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes; *Resumo* e *Abstract* serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas;

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional do(s) autor(es);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de dois autores serão citados pelos nomes de ambos, e de três ou mais, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita pelo acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos; todos os trabalhos citados terão suas referências completas incluídas na lista própria (Referências), inclusive os que tenham sido consultados indiretamente; no texto não se fará menção do trabalho que tenha servido somente como fonte; este esclarecimento será acrescentado apenas ao final das respectivas referências, na forma: "(Citado por Fulano 19...)"; a referência do trabalho que tenha servido de fonte será incluída na lista uma só vez; a menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita, de preferência, no próprio texto, colocada em parênteses, com citação de nome(s) ou autor(es); nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Flores & Houssay 1917, Roberts 1963a,b, Perreau et al. 1968, Hanson 1971);

f) a lista das referências deverá ser apresentada com o mínimo de pontuação e isenta do uso de caixa alta, sublinhando-se apenas os nomes científicos, e sempre em conformidade com o padrão adotado no último fascículo da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As **figuras** (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) deverão ser apresentadas em tamanho maior (cerca de 150%) do que aquele em que devam ser impressas, com todas as letras ou sinais bem proporcionados para assegurar a nitidez após a redução para o tamanho desejado; parte alguma da figura será datilografada; a chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura; desenhos deverão ser feitos com tinta preta em papel branco liso ou papel vegetal, vedado o uso de papel milimetrado; cada figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte superior da figura; fotografias deverão ser apresentadas em branco e preto, em papel brilhante, e sem montagem, ou em diapositivos (*slides*) coloridos; somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras será em cores; para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

4. As legendas explicativas das figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis e serão apresentadas em folha separada que se iniciará com o título do trabalho.

5. Os **quadros** deverão ser explicativos por si mesmos; cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas; não há traços verticais; os sinais de chamada serão alfabéticos, começando de *a* em cada quadro, e as notas serão lançadas logo abaixo do quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto, à esquerda.