

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Titulo:

Raiva em morcegos insetívoros (*Molossus molossus*) no semi-árido paraibano no
Nordeste do Brasil

Fabiano da Silva Lima

2005



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Titulo:

Raiva em morcegos insetívoros (*Molossus molossus*) no semi-árido paraibano no
Nordeste do Brasil

Autor:

Fabiano da Silva Lima

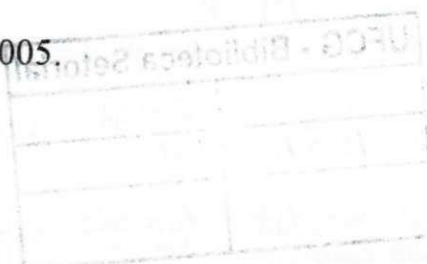
Orientador:

Orientador: Dr. Albério Antônio de Barros Gomes

Área de concentração:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Patos, fevereiro de 2005.





Biblioteca Setorial do CDSA. Maio de 2022.

Sumé - PB



FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CAMPUS DE PATOS - UFCG

L732r
2005

Lima, Fabiano da Silva.

Raiva em morcegos insetívoros (*Molossus molossus*) no semi-árido paraibano no Nordeste do Brasil / Fabiano da Silva Lima – Patos: UFCG, 2005.

43f.: il. col.

Inclui bibliografia.

Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1-Raiva. 2- Doença Infecto-Contagiosa. 3-Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal. I- Título.

CDU 616.9.21:619

Palavras chave: Morcego insetívoro, Chiroptera, raiva, diagnóstico, isolamento.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ALUNO:
FABIANO DA SILVA LIMA

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para
obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADO EM 15 / 03 / 05

MÉDIA: 10,0

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Albério Antônio de Barros Gomes

(Orientador)

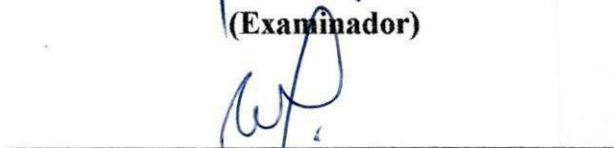
Nota: 10,0 (Dez)



Prof. Dr. Clebert José Alves

(Examinador)

Nota: 10,0 (Dez)



Prof. Ms. Antônio Flávio Medeiros Dantas

(Examinador)

Nota: 10,0 (Dez)

“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

DEDICATÓRIA

» A Deus, pela minha existência e pela oportunidade de realizar meu sonho de ser Médico Veterinário, sempre guiando e encorajando meus passos, fazendo com que chegasse até aqui.

» Aos meus pais, Gino e Maria do Céu, que sempre se fizeram presentes, me ensinaram a crer em Deus, a ter caráter e honestidade para vencer, a ser humilde para reconhecer meus erros e tentar corrigi-los, me ensinaram a viver.

» Aos meus irmãos, Wagner e Ana Livia, pela força e confiança que depositaram em mim e sempre me incentivaram para que eu não desistisse nunca dos meus ideais.

AGRADECIMENTOS

- » A Deus Todo Poderoso, pela vida maravilhosa que me concedeu.
- » Aos meus pais, que sempre lutaram muito para promover a educação dos seus filhos e por nunca terem medido esforços para fazer do meu sonho realidade. Tudo que consegui na minha vida até agora foi através dos seus esforços.
- » A todos da minha família, pela confiança e incentivo depositado na minha pessoa, em especial a minha avó Ana Maria (Nanô), por todo carinho e atenção que sempre teve com minha pessoa durante todos os dias da minha vida.
- » Aos meus orientadores, Dr. Albério Antônio de Barros Gomes e Dr. Clebert José Alves, pela contribuição determinante na minha formação profissional, pela paciência, compreensão, generosidade e por seus ensinamentos durante grande parte do meu desempenho acadêmico.
- » Aos meus companheiros e amigos de república: Keyson (cabeção), George (bocão), Flávio (catatau), Mateus (faísca), Diego (fumaça), Jocineisson (neissin), Gustavo (bomba), pela convivência e amizade construída no decorrer do curso. A Alex (pingo), Alexandre (pedrosa), Luciano (mago) e Renato pela amizade e companheirismo construídos no desenrolar dos primeiros semestres.
- » A todos de minha turma 00.1 e aos que agregaram a nós durante este longo percurso, pela amizade, ajuda mútua e por todos os bons momentos que passamos juntos durante o curso, em especial as garotas (Arline, Cristiane, Tatiana, Walkyria, Michelli, Nuhara, Rejane, Erleide e Simone) que tornaram o ambiente mais agradável.
- » Aos “passadonacascadoalho – Keyson (cabeção), Eduardo (bode), Jefferson (espanhol), Edilson (parafa), Luciano (bob esponja), Henrique (chiquinho), Jusabe (cabeça de ovo), Guilherme (½ quilo), Leandro (macarrão), Leison (31) por todos os bons momentos de alegria e descontração.

» Aos alunos 00.1 que se desvincularam da turma,mas que mesmo assim se fizeram presentes em todas as etapas desse: Vicente, Darllan, Êgly e especialmente a Larissa, por toda confiança e amizade.

» Aos amigos do Laboratório de Doenças Transmissíveis da UFCG: Othon, Ana Raquel, Carol, Sérgio, Prof. Leandro e Inácio, por todo o apoio, colaboração e incentivo.

» A todos os professores do curso de Medicina Veterinária da UFCG, pelos conhecimentos que me passaram durante o período acadêmico e pela amizade cultivada, especialmente aos professores: Albério, Gil, Clebert, Antonio Flávio, Leandro, Pedro Isidro, Rosangela, Sônia Lima e Graça. Este trabalho é fruto do que vocês plantaram no decorrer do curso.

» À Dona Francinete, funcionária do Laboratório de Doenças Transmissíveis do Departamento de Medicina Veterinária da UFCG, por sua ajuda mútua, pela harmoniosa convivência, ensinamentos e amizade sincera durante o curso.

» A todos os funcionários da UFCG, especialmente a Tereza e Damião, por sempre nos atender com tanto carinho.

» A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

» Ao PIBIC/CNPq, pela concessão da bolsa de iniciação científica.

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

A todos muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Agente etiológico.....	16
2.2 Aspectos epidemiológicos.....	18
2.3 Transmissão.....	19
2.4 Patogenia.....	20
2.5 Sinais clínicos.....	20
2.6 Patologia.....	21
2.7 Diagnóstico.....	23
2.7.1 Teste de Imunofluorescência Direta (IFD).....	25
2.7.2 Prova de Inoculação Intracerebral em Camundongos (IICC).....	27
2.8 Controle e profilaxia.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Animais.....	30
3.1.1 Morcegos.....	30
3.1.2 Camundongos.....	30
3.2 Conjugado.....	30
3.3 Diluente.....	32
3.4 Técnicas.....	32
3.4.1 Teste de Imunofluorescência Direta (IFD).....	32
3.4.2 Prova de Inoculação Intracerebral em Camundongos (IICC).....	32

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
6	CONCLUSÕES.....	36
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Microscopia eletrônica do vírus rábico.....	16
Figura 2	Modelo estrutural do vírus rábico.....	17
Figura 3	Morcego hematófago mordendo um suíno.....	19
Figura 4	Reação inflamatória perivascular em fragmento de medula espinhal em bovinos.....	22
Figura 5	Corpúsculos de Negri em células piramidais do hipocampo de um bovino.....	23
Figura 6	Reação antígeno-anticorpo previamente marcados com isotiocianato de fluoresceína.....	25
Figura 7	Morcego insetívoro (<i>M. molossus</i>) após colheita do cérebro.....	26
Figura 8	Morcego insetívoro da espécie <i>Molossus molossus</i>	31
Figura 9	Mapa da Paraíba destacando o município de Patos.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHK = células de rim de hamster neonato
CH3-Rockfeller = linhagem de camundongo
IFD = imunofluorescência direta
IICC = inoculação intracerebral em camundongos
Km = quilômetro
L = polimerase RNA-dependente
M = proteína matriz
MNA = células de neuroblastoma de camundongos
mL = mililitro
N = nucleoproteína
NS = fosfoproteína
NaCl = cloreto de sódio
nm = nanômetros
 μm = micrômetros
PCR = reação em cadeia polimerase
pH = potencial de hidrogênio iônico
PV = Pasteur virus
RNA = ácido ribonucleico
rpm = rotações por minuto
SNC = sistema nervoso central
SNP = sistema nervoso periférico
UI/mL = unidades internacionais por mililitro
v/v = volume/volume

RESUMO

LIMA, FABIANO DA SILVA. **Raiva em morcegos insetívoros (*Molossus molossus*) no Nordeste do Brasil**. Patos, UFCG. 2005 43p. (Monografia – Curso de Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal).

A raiva é uma zoonose causada por um RNA vírus pertencente a família *Rhabdoviridae* e ao gênero *Lyssavirus*. Na natureza a raiva silvestre mantém-se de forma similar à urbana, em determinado ecossistema, algumas espécies de mamíferos encarregam-se de perpetuar o vírus. No Brasil, a raiva foi diagnosticada em mamíferos silvestres das Ordens: Chiroptera, Carnívora, Marsupialia, Primata. O presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência da raiva e isolar o vírus rábico em morcegos insetívoros da família *Molossidae*, pertencentes a espécie *Molossus molossus*, a partir do cérebro destes animais, provenientes da zona urbana do município de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. Foram diagnosticados sete casos positivos para raiva, dos quais seis foram enviados vivos, e um se encontrava em adiantado estado de decomposição. Os espécimes enviados vivos foram encontrados durante o dia em locais visíveis e não habituais, apresentando sinais de incoordenação e/ou paralisia. Algumas semanas após o estabelecimento do diagnóstico realizou-se captura e sangria de outros morcegos insetívoros, que foram submetidos ao diagnóstico de raiva pelas provas de imunofluorescência direta e inoculação em camundongos. A amostra analisada apresentou prevalência de 5,4% de positividade, mostrando que a raiva nessa região, é uma doença de importância Econômica e de Saúde Pública.

Palavras-chave: raiva, morcego insetívoro, Chiroptera, diagnóstico, isolamento.

ABSTRACT

LIMA, FABIANO DA SILVA. Rabies in insectivorous bats (*Molossus molossus*) of the semiarid of the Northeastern Brazil. Patos, UFCG. 2005 43p. (Monograph – Veterinary Medicine, Preventive Veterinary Medicine and Animal Health).

The rabies is a zoonosis caused by a virus RNA belonging the *Rhabdoviridae* family and to the *Lyssavirus* gender. In the nature the wild rabies stays from a similar way to the urban, in certain ecosystem, some species of mammals take charge of perpetuating the virus. In Brazil, the rabies was diagnosed in wild mammals of the Orders: Chiroptera, Carnivorous, Marsupialia, Primate. The present work had as objective to verify of rabies occurrence and to isolate the rabies virus in insectivorous bats of the *Molossidae* family, belonging the *Molossus molossus* species, in brain materials, of these encourages, coming of the urban zone of the municipal of Patos, State of Paraíba, Brazil. Seven positive cases to rabies were diagnosed, of which six were livings envied, and one found in early decomposition state. The specimens livings envied were found during the day in visible places and no habitual, presenting incoordenation and paralysis. Some after weeks the establishment of rabies diagnosis, bats was captured on the roof of other insectivorous bats, that were submitted to the rabies diagnosis by the tests of direct immunofluorescency and mice inoculation. The analyzed sample presented prevalence of 5,4% of assertiveness, showing that the rabies in that area, is a disease of Economical importance and of Public Health.

Keywords: Rabies, insectivorous bat, Chiroptera, diagnosis, isolation.

1- INTRODUÇÃO

A raiva é uma das doenças mais antigas e temidas, observada no Egito antes do ano 2300 a.C. e na Antiga Grécia, descrita claramente por Aristóteles (FENNER et al., 1992). 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. Em 1884, antes mesmo que se começasse a compreender a natureza dos vírus, Pasteur e seus colaboradores desenvolveram uma vacina contra a raiva, iniciando assim, a era moderna de prevenção das enfermidades virais através da vacinação (STEELE, 1975; WILKINSON, 1988). Desde então, em particular nos últimos vinte anos, consideráveis avanços tem sido feitos, no que diz respeito aos conhecimentos da natureza do agente infeccioso, seu modo de transmissão e mecanismos patogênicos (CAMPBELL; CHARLTON, 1988).

A raiva silvestre se mantém na natureza de forma similar a raiva urbana. Dentro de um determinado ecossistema, uma ou mais espécies de mamíferos se encarregam de perpetuar o vírus rábico. 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. Na medida em que surge uma nova geração de susceptíveis, ocorrem novos focos epidêmicos (INSTITUTO PASTEUR, 2001).

No Brasil, a raiva tem sido diagnosticada em mamíferos silvestres como os animais da Ordem Chiroptera (morcegos), da Ordem Carnívora, as famílias Canidae (cachorro do mato ou raposa), Procyonidae (mão pelada ou guaxinim, quati), Mustelidae (furão), e Felidae (felinos); da Ordem Marsupialia (gambás); da Ordem Primata, compreendendo primatas não humanos das famílias Callithricidae (sagüis) e Cebidae (bugio, macaco-prego, macaco-aranha) (INSTITUTO PASTEUR, 2001).

Atualmente, os morcegos são estudados como reservatórios e, ou transmissores de agentes patogênicos para o homem, como o vírus da raiva. Carini (1911) foi o primeiro a levantar essa hipótese, quando diagnosticou um surto em bovinos em Santa Catarina, sendo confirmado por Pawan (1936) 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 em 1954, por Venters. 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 (CONSTATINE, 1970). Registrando-se, inclusive, 10 mortes humanas, creditadas à exposição a morcegos (CONSTATINE, 1979).

Na África, King e 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 sorotipos segundo King e 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 e 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; HARMANI; SILVA, 1992).

Uieda, Harmani e Silva (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.

Para melhor compreensão da epidemiologia da raiva em morcegos insetívoros de área urbana, o presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência da raiva e isolar o vírus rábico em morcegos insetívoros da espécie *Molossus molossus*, na zona urbana no município de Patos-PB.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Agente Etiológico

O agente da raiva pertence à ordem *Mononegavirales* e à família *Rhabdoviridae*, a qual compreende mais de 100 vírus (Fenner et al., 1992) de vertebrados, invertebrados e vegetais, cujos membros possuem em todos os casos uma morfologia característica em forma de bala de revólver (figura 1), pertencente ao gênero *Lyssavirus*, apresentando diâmetro e comprimento aproximados de 75 nm e 180 nm, respectivamente, (KAPLAN; TURNER; WARRELL, 1986; TORDO; POCH, 1988), variando de acordo com a cepa considerada, é também composto por um envoltório formado por uma dupla membrana fosfolipídica na qual são implantadas espículas de aproximadamente 9 nm, de composição glicoprotéica, responsáveis pela formação dos anticorpos neutralizantes. Esta membrana envolve o nucleocapsídeo (grupo específico) de conformação helicoidal, composto de um filamento único de RNA (ácido ribonucléico) 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), uma glicoproteína de superfície (proteína G), uma nucleoproteína (proteína N), uma fosfoproteína (proteína NS) e uma proteína matriz (proteína M) (figura 2) (BOURHY; SUREAU; TORDO, 1990; SMITH, 1996; TORDO, 1996).

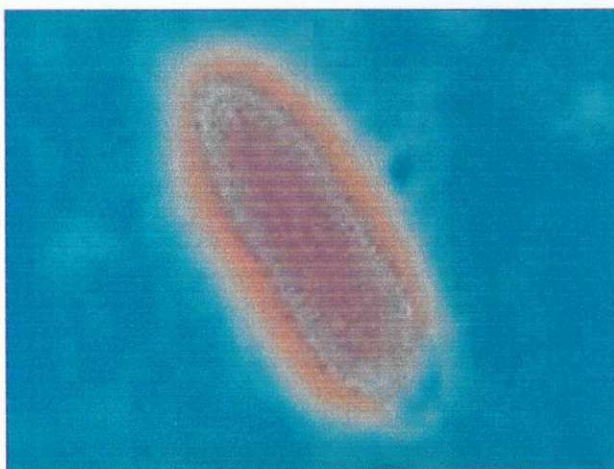


Figura 1 – Microscopia eletrônica do vírus rábico

Fonte: Internet

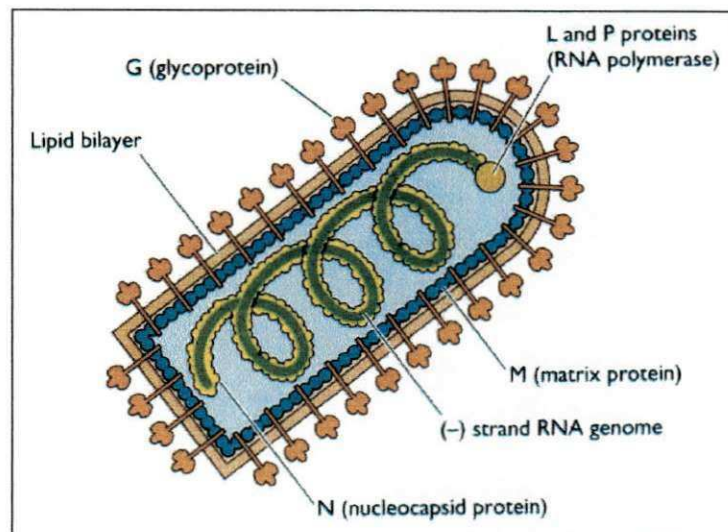


Figura 2 – Modelo estrutural do vírus rábico

Fonte: Internet

O vírus da raiva é lábil, não persistindo as condições ambientais. A luz do sol, temperaturas elevadas, ressecamento, calor, desinfetantes comuns são agentes que, sem exceção, destroem a infectividade do vírus da raiva. Este vírus é pouco mais resistente aos desinfetantes fenólicos, do que aos outros desinfetantes químicos como detergentes e sabões, éter, acetona, álcool, componentes iodados, formol, ácido com pH 3 e bases com pH 11. Resiste aproximadamente 35 segundos quando em temperatura de 60° C, 4 horas a 40° C e vários dias a 4°C (SMITH, 1984; WEBSTER, 1985).

O uso de anticorpos monoclonais, 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; ROLLIN; WIKTOR, 1983; SMITH; BAER, 1988), levando os pesquisadores a continuarem buscando respostas de inúmeros pontos que ainda permanecem obscuros.

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 daubenton*; e o Genótipo VII (GT7), “Australian Bat Lyssavirus” ou ABL, (ALVAREZ; RUIZ, 1998; BOURHY; KISSI; TORDO, 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.

2.2- Aspectos Epidemiológicos

A raiva é uma enfermidade que acomete animais de sangue quente de todas as idades, inclusive o homem. 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). No ciclo da raiva silvestre tanto morcegos hematófagos como frugívoros e insetívoros podem atuar como vetores (BRAUND; BREWER; MAYHEW, 1987; JUBB; KENNEDY; PALMER, 1993), embora constituam modos diferenciados de contaminação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996). Dados da Fundação Nacional de Saúde demonstram que o morcego é o segundo transmissor de raiva humana no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996), embora os dados não especifiquem quais os tipos de morcegos transmissores.

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 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993; ACHA; SZYFRES, 1986). Sem dúvida, o caráter de zoonose é o que mais preocupa nessa doença, pois se estimam 40.000-100.000 mortes de humanos pela raiva todos os anos no mundo. Por outro lado,

estima-se uma mortalidade anual de 50.000 cabeças de bovinos só na América Latina, o que associado às perdas indiretas, somaria algo em torno de 44 milhões de dólares por ano (FERNANDES, 2003).

Na Europa, Canadá, Estados Unidos e países da América Latina, o potencial risco de transmissão da raiva por cães e gatos tem sido minimizado pelas campanhas de vacinação anuais. Nesses países, os reservatórios tradicionais anteriormente mencionados têm sido substituídos por animais silvestres. A natureza cíclica da raiva é um importante fator na Epidemiologia desta doença. Em muitas áreas, a grande incidência da raiva deve-se à sua própria manutenção em reservatórios silvestres (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992).

2.3- Transmissão

A raiva pode ser transmitida direta ou indiretamente. A forma de transmissão mais comum é a direta, onde o animal raivoso através da mordedura (figura 3), arranhadura e/ou lambedura 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 material infectado, também pode ocorrer à contaminação das mucosas ocular, nasal e oral. 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; BREWER; MAYHEW, 1987; JUBB; KENNEDY; PALMER, 1993).



Figura 3: Morcego hematófago mordendo um suíno

2.4- Patogenia

A infecção ocorre com a inoculação do vírus em uma lesão, geralmente através da mordida de um animal raivoso ou por contaminação de feridas recentes com saliva ou material infectado. 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 e da natureza da ferida. O vírus migra via movimento centrípeto passivo através do axoplasma dos nervos periféricos até o 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, SNP, nos demais tecidos e, inclusive no leite. Ele também tem afinidade pelas glândulas salivares, replicando nos ácinos e sendo eliminado junto com a saliva através dos ductos. Nos morcegos, o vírus tem maior afinidade pela glândula salivar do que pelo tecido nervoso (FERNANDES, 2003). Outras exceções à via nervosa envolvem animais jovens e de espécies altamente susceptíveis, como por exemplo, o hamster (*Mesocricetus auratus*) (CHARLTON, 1988). A presença do vírus rábico em tecidos não nervosos tem sido estudada com o uso da técnica de imunofluorescência direta, ao mesmo tempo que a infectividade tem sido determinada através da inoculação de suspensões destes tecidos em animais de laboratório (SCHNEIDER, 1975).

2.5- Sinais Clínicos

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, polipnéia, 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 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; BREWER; MAYHEW, 1987).

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).

2.6- Patologia

As alterações patológicas de importância na raiva se restringem à microscopia, embora achados como ferimentos, mutilação e corpos estranhos no estômago, sejam indicativos da doença (FERNANDES, 2003).

Achados histopatológicos incluem encefalomielite não supurativa, multifocal, moderada com ganglioneurite e meningite cranio-espinhal. Em bovinos e eqüinos as lesões são mais proeminentes no tronco encefálico e medula, já nos caninos as lesões são observadas, principalmente no tronco encefálico e hipocampo, podendo disseminar-se para a medula. Observa-se infiltrado mononuclear, manguitos perivasculars de linfócitos e raras células polimorfonucleares (figura 7), focos linfocíticos e proliferação glial difusa, que inicialmente é microglial e, posteriormente, astrocitária. Uma das lesões mais características da raiva é a presença dos corpúsculos de Negri (figura 4), que são corpúsculos de inclusão viral, intracitoplasmáticos, redondos a ovais, com 0,25-0,27 μ m, eosinofílicos, individuais ou múltiplos, que ocorrem em todas as espécies. Podem ser encontrados em diferentes áreas no SNC, embora seja convencionalizado que eles são mais freqüentes nos neurônios do hipocampo dos caninos e nas células de Purkinje do cerebelo dos bovinos. 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; BREWER; MAYHEW, 1987; JUBB; KENNEDY; PALMER, 1993).

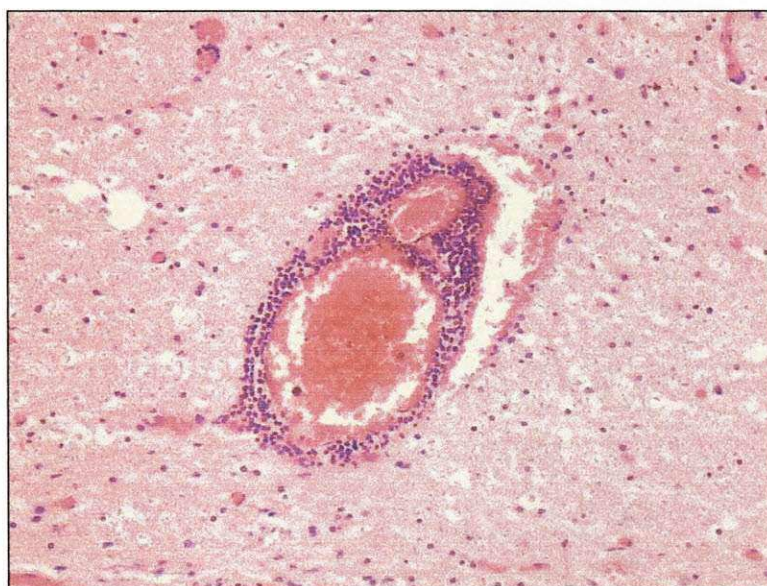


Figura 4 – Reação inflamatória perivascular em fragmento de medula espinhal de um bovino.

Fonte: Internet

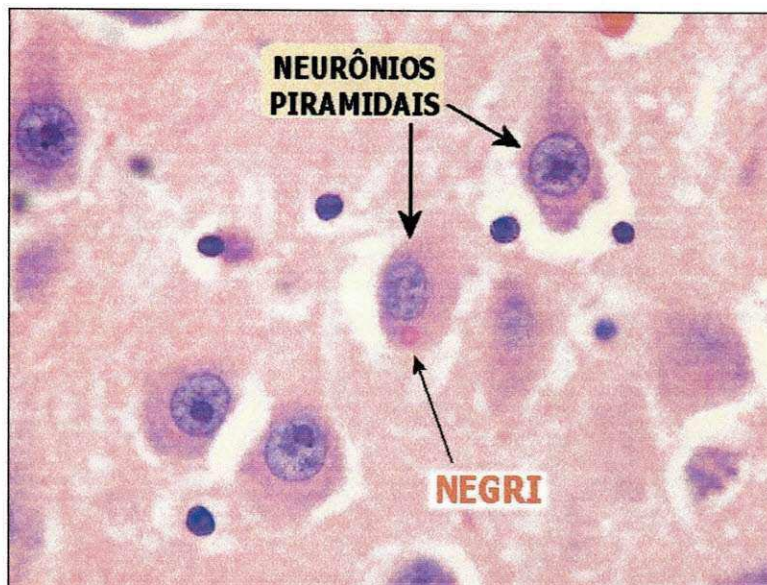


Figura 5 – Corpúsculos de Negri em células piramidais do hipocampo de um bovino.

Fonte: Internet

2.7- Diagnóstico

O suporte laboratorial é imprescindível para o diagnóstico da doença, já que os sinais clínicos são diversos. Antes do desenvolvimento das técnicas contemporâneas de diagnóstico microbiológico, a doença era reconhecida apenas pela observação dos corpúsculos de Negri, contudo, sabe-se que os corpúsculos são identificados em apenas 50% dos casos verdadeiramente positivos. Cerca de 15-30% dos casos de raiva se devem a infecções com cepas virais que não produzem corpúsculos (BRAUND; BREWER; MAYHEW, 1987; JUBB; KENNEDY; PALMER, 1993). Colorações de Mann, Giemsa ou Sellers auxiliam a diferenciar os corpúsculos verdadeiros de pseudo-corpúsculos de Negri, que são inclusões inespecíficas no núcleo geniculato lateral e no hipocampo de algumas espécies, já que os verdadeiros corpúsculos de Negri se coram de magenta com pequenos pontos azul-escuros no seu interior (JUBB; KENNEDY; PALMER, 1993).

Para o diagnóstico de raiva, o SNC é o melhor material e o mais usualmente utilizado. Devendo ser enviado ao laboratório o mais rapidamente possível, um hemisfério sob refrigeração, em recipiente hermeticamente fechado ou se a previsão de trânsito da amostra é superior a 48 horas, deve-se enviá-lo em glicerina a 50%, e outro hemisfério em formol a 10% para a histopatologia. O exame de glândulas salivares dos

possibilidade do animal suspeito, ser positivo para raiva (KOTAIT; GONÇALVES, 1982; FERNANDES, 2003).

As técnicas de laboratório recomendadas pela Organização Mundial de Saúde são: a histopatologia, a imunofluorescência direta e a prova biológica. A prova histopatológica consiste na utilização de determinados corantes para detectar os corpúsculos de Negri em células nervosas. Os corpúsculos de Negri são inclusões acidófilas, intracitoplasmáticas, que se apresentam sob diferentes formas e tamanhos. O que caracteriza o corpúsculo de Negri é a presença de grânulos internos basófilos, sendo que estes permitem um diagnóstico diferencial seguro da raiva e outras enfermidades. O método de coloração de Sellers une a sensibilidade à fácil identificação dos corpúsculos de Negri, chegando à sensibilidade de 90%, quando o técnico é experiente (KOTAIT; GONÇALVES, 1982).

A imunofluorescência direta, desde que bem executada, é superior às demais técnicas, tanto na rapidez, como na precisão. O procedimento consiste em marcar o anticorpo anti-rábico com isotiocianato de fluoresceína, deixar que este anticorpo reaja com o antígeno específico, cuja presença se quer determinar, e observar o resultado da reação em microscópio de imunofluorescência. Diz-se que uma substância é fluorescente se, depois de absorver energia luminosa de um determinado comprimento de onda, emitir luz de um comprimento de onda maior. Os antígenos que reagem com os anticorpos marcados aparecem, à luz ultravioleta, como partículas brilhantes de cor verde sobre um fundo escuro (LARCHI, 1975; KOTAIT; GONÇALVES, 1982).

O método de imunofluorescência indireta é útil para detectar anticorpos em amostra de soro, visando à eliminação de vacinação em indivíduos já vacinados, com altos títulos de anticorpos, evitando assim acidentes vacinais, para a execução desta técnica, faz-se necessário à conjugação de antiglobulina específica com o isotiocianato de fluoresceína (LARCHI, 1975; KAPLAN; KOPROWISKI, 1976; KOTAIT; GONÇALVES, 1982).

Para realização da prova biológica, utilizam-se camundongos lactentes, que são os animais mais susceptíveis à prova de inoculação intracerebral. Embora o período de incubação do vírus rábico, nesta espécie, seja de 7 a 18 dias, a técnica de anticorpos fluorescentes pode detectar o antígeno rábico cinco dias após a inoculação, antes do aparecimento dos sinais clínicos. (KOTAIT; GONÇALVES, 1982).

A soroneutralização é bastante importante também, visto que é a única técnica que indica diferenças entre as proteínas de membranas dos diferentes sorotipos do vírus rábico (LARCHI, 1975; KOTAIT; GONÇALVES, 1982).

Técnicas de amplificação viral podem ser utilizadas quando a amostra apresenta uma carga viral muito pequena, especialmente, quando há necessidade de diagnóstico *in vivo* em amostras de saliva ou em biópsias de pele, o que é mais freqüente em humanos. Para tal, utiliza-se cultura do vírus em células de neuroblastoma de camundongos (MNA) ou em rim de hamster neonato (BHK). Faz-se o isolamento do vírus após a sua replicação e amplificação. Outra técnica de amplificação é a reação de polimerase em cadeia (PCR) (FERNANDES, 2003).

Outras provas que também podem ser utilizadas, no laboratório, para diagnóstico, são: fixação de complemento, imunodifusão, imunoperoxidase, hemoaglutinação, ELISA e radioimunoensaio. As técnicas dos anticorpos fluorescentes e de imunoperoxidase têm sido aplicadas a biópsias da pele, especialmente as vibrissas sensitivas, na tentativa de desenvolvimento de procedimento apropriado para o diagnóstico antemorte da raiva (GREENE, 1984). Foram obtidos resultados positivos em diversas espécies animais; entretanto, os resultados negativos não são confiáveis para o descarte da possibilidade de raiva, no diagnóstico. Em geral, atualmente considera-se que o exame imunológico das biópsias cutâneas não é confiável para o diagnóstico antemorte da raiva.(FENNER et al. 1992).

2.7.1- Teste de Imunofluorescência Direta (IFD)

O princípio do método é a detecção dos antígenos rábicos presentes em amostras colhidas do SNC, principalmente do encéfalo, através da utilização de anticorpos anti-rábicos marcados com uma substância fluorescente, o isotiocianato de fluoresceína (figura 3) (DEAN; ABELSETH; ATANASIU, 1996).

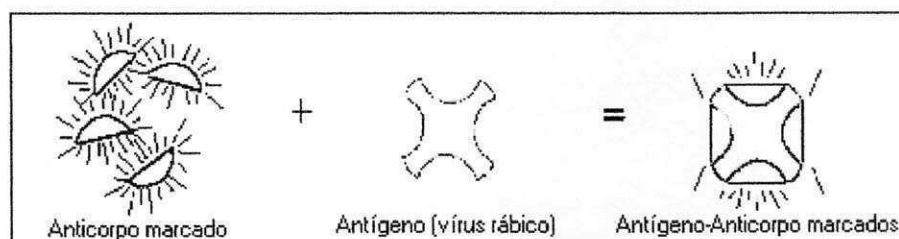


Figura 6 – Reação antígeno-anticorpo previamente marcados com isotiocianato de fluoresceína

São utilizadas amostras de encéfalo resfriado dos animais a serem analisados. Estes são seccionados transversalmente, e com auxílio de uma espátula de madeira (figura 7), são feitas leves impressões (imprints) em lâminas para microscopia, previamente identificadas. Como controle positivo são preparadas lâminas com “imprints” de cérebros de camundongos recém-nascidos inoculados com vírus da raiva. As lâminas são secas ao ar e depois colocadas em cuba de coloração, com acetona fria e depois colocadas em congelador à temperatura variando de -15 a -20°C, durante 30 minutos e novamente são deixadas ao ar para secar, em seguida, com o uso de esmalte de unha, delimita-se uma pequena área circular da lâmina para a colocação do conjugado (DEAN; ABELSETH; ATANASIU, 1996).

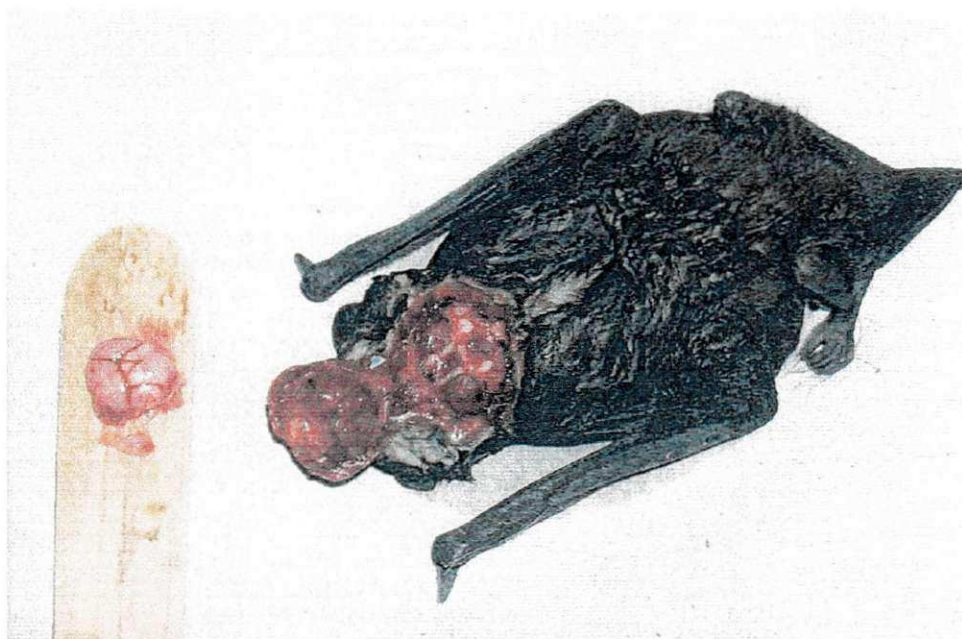


Figura 7 – Morcego insetívoro da espécie *Molossus molossus*, após colheita do cérebro.

Fonte: GOMES, A. A. B.

Colocam-se duas a três gotas de conjugado na área delimitada da amostra, em seguida esta é incubada em estufa a 37°C por 30 minutos. Posteriormente, retira-se o excesso de conjugado com solução fisiológica de NaCl a 0,9% em seguida a lâmina é imersa em água destilada por 2 minutos para eliminar qualquer conjugado não fixado. Novamente o material é deixado ao ar para secar, e então se proceder à montagem das lâminas. Coloca-se uma gota de glicerina com pH 8 para fixar a lamínula e, posteriormente é realizada a observação em microscópio de fluorescência, que é um microscópio equipado com um condensador escuro e uma luz ultravioleta. A

visualização deve ser feita numa sala escura, pois apenas uma pequena parte da energia é convertida em fluorescência (DEAN; ABELSETH; ATANASIU, 1996).

A resposta positiva é dada pelo aparecimento de inclusões intracitoplasmáticas verdes ou verde-amareladas nitidamente brilhantes e de tamanho e forma variáveis. Existem também inclusões filamentosas, que correspondem aos axônios e dendritos repletas de inclusões (DEAN; ABELSETH; ATANASIU, 1996; FERNANDES, 2003).

As lâminas, bem como uma amostra do encéfalo do animal, devem ser armazenadas a uma temperatura de 4°C até a confirmação do resultado através da prova biológica.

2.7.2- Prova de Inoculação Intracerebral em Camundongos (IICC)

Essa prova é realizada concomitantemente a IFD e é considerada definitiva no diagnóstico de raiva. São utilizados camundongos albinos (*Mus musculus*), no mínimo 5 animais por amostra, pois são considerados mais susceptíveis ao vírus da raiva.

São coletados fragmentos cerebrais de diferentes porções do encéfalo, aproximadamente 1g, estes são macerados em um cadinho com auxílio de um pilão de porcelana. Para a suspensão utiliza-se 4ml de diluente, que é composto por água destilada, soro estéril de coelho e antibióticos para minimizar as chances de infecções secundárias. Posteriormente esse material é levado à centrifuga por um período de 10 a 15 minutos a 2000rpm. Apenas o sobrenadante é utilizado para a inoculação intracerebral, numa dose de aproximadamente 0,03ml, utilizando-se seringa de insulina. (KOPROWISKI, 1996).

No momento da inoculação, os camundongos são imobilizados pela cauda e pela cabeça. A agulha deve ser introduzida perpendicular à cabeça sem muita força, pois o crânio é facilmente atravessado. Após a inoculação o animal é liberado em caixas previamente identificadas de acordo com o número da amostra. A data de inoculação e as possíveis alterações que venham a ocorrer durante o período de observação, de 21 dias, são anotadas em uma ficha. Os animais devem ser observados diariamente e caso algum animal venha a óbito, o encéfalo é coletado para confirmação do diagnóstico através da IFD (KOPROWISKI, 1996).

2.8- Controle e Profilaxia

A profilaxia deve ser 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. Atualmente várias vacinas são comercializadas. Elas podem ser produzidas através da inativação do vírus ou a partir de vírus vivo modificado, sendo que as vacinas inativadas apresentam maiores garantias de inocuidade, embora não existam casos registrados de raiva, a partir do uso de vacinas atenuadas. São recomendadas campanhas anuais de vacinação, onde cães e gatos maiores de três meses de idade devem ser vacinados (FERNANDES, 2003).

(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 que vivem em áreas expostas e à redução dos morcegos hematófagos, através do uso de pastas vampiricidas que são compostas por anticoagulantes. Para evitar casos de raiva por morcegos não hematófagos, deve-se advertir à população para que não recolham morcegos caídos ou capturem os que voam durante o dia (ACHA & SZYFRES, 1986).) Nesses casos é de suma importância que os morcegos não tenham acesso a frestas de telhado, cumeeiras, beirais, porões e ductos de ventilação, que devem estar vedados para impedir a instalação de uma nova colônia. Em relação ao controle da raiva transmitida por carnívoros terrestres, baseia-se no controle da população "vetora", se necessário deve haver uma redução da população responsável pela manutenção do ciclo de transmissão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996).

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).

Quanto à prevenção da raiva humana, a vacinação deve limitar-se a grupos de alto risco, como pessoal de laboratório e veterinários. A profilaxia pós-exposição consiste no tratamento local da ferida, que deve ser lavada em água corrente, com sabão ou detergente e desinfetada com álcool ou iodo; e imunização passiva e ativa do indivíduo. Existem vários protocolos de imunização pós-exposição, um dos mais

indicados é a aplicação de uma dose de soro hiperimune e cinco doses de vacina distribuídas num período de 28 dias (FERNANDES, 2003).

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Animais

3.1.1- Morcegos

Foram enviados para diagnóstico de raiva e capturados, no período de outubro de 2002 a março de 2003, 111 morcegos insetívoros da espécie *Molossus molossus* (figura 4), identificados de acordo com a chave de classificação de Vizotto e Tadei (1973), dos quais 11 foram recebidos pelo Laboratório de Virologia do Departamento de Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande – Campus de Patos-PB – DMV/CSTR/UFCG, dentre eles um estava morto e em avançado processo de autólise. Os outros 100 foram procedentes de captura realizada em uma colônia localizada na zona urbana do município de Patos-PB (figura 8), para tal procedimento foi utilizada uma rede de malha apropriada (mist nets), que foi armada na entrada da colônia. A rede foi instalada ao entardecer e foram capturados 100 animais. Os 100 morcegos que foram capturados foram anestesiados com éter e submetidos à eutanásia para retirada do encéfalo.

3.1.2- Camundongos

Foram utilizados 186 camundongos suíços albinos, originários da linhagem CH3 Rockfeller, com aproximadamente 21 dias de idade e peso variando entre 11 e 15 gramas, procedentes do biotério do DMV/CSTR/UFCG. Esses animais foram utilizados para o diagnóstico e isolamento do vírus rábico.

3.2- Conjugado

Para o propósito do diagnóstico de raiva por meio da IFD, foi utilizado um conjugado produzido no Laboratório VPS da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo - USP, cujos anticorpos foram obtidos a partir da hiperimunização de hamster (*Mesocricetus auratus*) com estirpe clássica do vírus

rábico, amostra PV, e marcados com isotiocianato de fluoresceína, para produzir a fluorescência.



Figura 8 – Morcego insetívoro da espécie *Molossus molossus*

Fonte: Internet

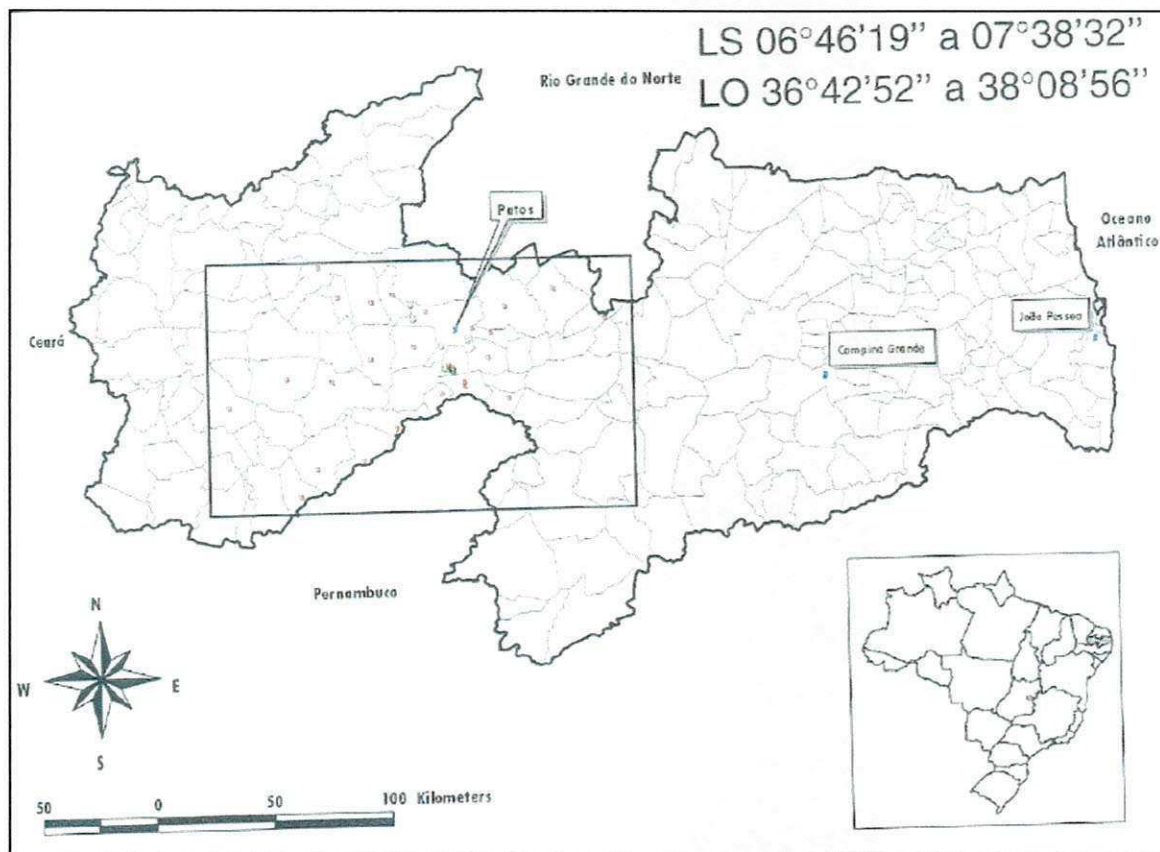


Figura 9 – Mapa da Paraíba, destacando o município de Patos.

Fonte: GOMES, A. A. B.

3.3- Diluente

O veículo utilizado na diluição das amostras trabalhadas consistiu de uma solução de água destilada esterilizada contendo 2% (v/v) de soro de coelho esterilizado por filtração, com pH 7,2, acrescido de penicilina (500 UI/mL) e estreptomicina (1560 UI/mL) (KOPROWSKI, 1996).

3.4- Técnicas

3.4.1- Teste de Imunofluorescência Direta

Para efeito de diagnóstico de raiva nos animais analisados, foi realizada a pesquisa do antígeno rábico, através da IFD, utilizando “imprints” individual, em lâmina para microscopia, dos cérebros dos morcegos, posteriormente fixados em acetona, segundo a técnica descrita por Dean; Abelseth e Atanasiu (1996).

3.4.2- Prova de inoculação intracerebral em camundongos (IICC)

Dos 11 morcegos enviados ao laboratório para o diagnóstico de raiva, foi realizada a colheita do cérebro, posteriormente, cada cérebro foi macerado separadamente, diluído a 20%, centrifugado a 2000rpm por 10 minutos e inoculado 0,03ml por via intracerebral em seis camundongos; dos 100 morcegos capturados foi feito um “pool” de cinco cérebros, os quais foram macerados, diluídos a 20%, centrifugados a 2000rpm por 10 minutos e inoculado 0,03ml por via intracerebral em seis camundongos, de acordo com a técnica de Koprowski, (1996). Posteriormente, os camundongos inoculados foram submetidos a um período de observação diária, durante 21 dias, em busca de sinais que confirmassem o diagnóstico positivo para raiva.

04- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 111 morcegos enviados ao laboratório ou capturados, submetidos ao diagnóstico de raiva, pelas provas de imunofluorescência direta e inoculação intracerebral em camundongos, seis deles apresentaram-se positivos, para ambas as provas. Um apresentou-se positivo apenas na imunofluorescência direta e os 104 restantes apresentaram-se negativos para ambas as provas.

Dos 11 morcegos enviados ao laboratório, oito foram encontrados no interior de residências da área urbana do município de Patos-PB, dentre estes, quatro mostraram-se positivos em ambas as provas e 1 mostrou-se positivo apenas na IFD, os outros três foram capturados no âmbito da UFCG/CSTR/PB e 2 mostraram-se positivos em ambas as provas. Dentre eles, um foi capturado por um gato. Nessas circunstâncias, a possibilidade de ocorrer um acidente envolvendo pessoas, principalmente crianças e animais domésticos é preocupante (NOWAK, 1975; TADDEI, 1983), já que existem vários registros de acidentes envolvendo animais desta espécie, alguns deles culminando em morte de seres humanos (CONSTANTINE, 1988; CONSTANTINE, 1979).

Após o registro do primeiro caso de raiva em morcegos insetívoros, demonstrado nos Estados Unidos (VENTERS, 1954), houve um aumento significativo na incidência de morcegos acometidos pelo vírus rábico, em alguns casos epidemias, como a ocorrida na Europa, na década de 80, onde morreram uma criança e um pesquisador, após terem sido atacados por morcegos (GARDNER, 1989). Na Europa e nos Estados Unidos, a preocupação com a raiva transmitida pelos morcegos insetívoros é crescente, já que a doença está controlada entre os animais domésticos, são as espécies silvestres que oferecem risco à saúde humana, visto que os morcegos insetívoros habitam as cidades, e normalmente os acidentes que os envolvem são negligenciados pelas vítimas (BRASS, 1994), portanto, deve-se advertir à população para que não recolham morcegos caídos ou capturem os que voam durante o dia (ACHA & SZYFRES, 1986), se necessário deve haver uma redução da população responsável pela manutenção do ciclo de transmissão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996), já que a partir de um foco primário, a raiva silvestre pode propagar-se de 20 a 60 km por ano, isso se deve em grande parte aos morcegos, 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).

Porém, outro aspecto importante que deve ser levado em consideração, é a participação do morcego insetívoro no equilíbrio ecológico da população de insetos, uma vez que consomem diariamente grande quantidade dos mesmos (ALMEIDA, 1994). Tuttle, em 1979, estimou que 500 morcegos podem facilmente capturar 500.000 insetos em uma noite, portanto não deve ocorrer combate indiscriminado a essas espécies que desempenham papel importante, e talvez indispensável, na eliminação de insetos noturnos.

A adaptação dos morcegos insetívoros, que constituem a maior parte da população de morcegos (NOWAK, 1975; TADDEI, 1983), ao meio urbano se deve em grande parte a oferta abundante de alimento e a facilidade de encontrar abrigo nas cidades, associada à ausência de predadores naturais, por isso faz-se necessário impedir o acesso dos morcegos a locais que possam lhes servir como abrigo, minimizando desta forma a incidência de acidentes envolvendo estes animais.

Todos os morcegos enviados ao Laboratório de Virologia foram encontrados em locais e horários não habituais, principalmente no período da manhã, características estas que podem ser consideradas como sinal clínico de estado doentio de animais provavelmente com raiva (FERNANDES, 2003), alguns apresentando sinais de incoordenação e paralisia.

Os morcegos foram mantidos vivos em cativeiro até a morte, exceto o que foi enviado morto, e durante este período a maioria deles desenvolveu quadro clínico característico de raiva, apresentando sintomatologia nervosa, como paralisia, agressividade exacerbada e excitação (BAER, 1975).

Posteriormente, estes animais foram submetidos às provas de imunofluorescência direta e inoculação intracerebral em camundongos, onde seis foram diagnosticados positivos para as duas provas e o que foi enviado morto apresentou-se positivo apenas para IFD, devido a má conservação e o adiantado estado de decomposição, então decidiu-se fazer uma captura. Os casos diagnosticados positivos para ambas as provas, representam 5,4% da amostra estudada, demonstrando um elevado índice, quando comparados a estudos semelhantes (CONSTANTINE, 1988), porém deve-se levar em consideração o número de amostras utilizado em cada experimento. No Brasil, após Silva (1961) ter isolado o vírus rábico de um morcego insetívoro, 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; HARMANI; SILVA, 1992).

Os resultados negativos ratificam que os morcegos não são transmissores assintomáticos do vírus rábico como descrito nos primeiros trabalhos (CONSTANTINE, 1970).

A raiva é uma doença bem sucedida, tendo persistido ao longo do tempo e do espaço, atingindo uma distribuição mundial em uma grande variedade de espécies. As razões para esse sucesso não estão bem claras. 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). Caso se pretenda manter a raiva urbana sob controle, torna-se essencial esclarecer o papel desempenhado pelos morcegos insetívoros na epidemiologia dessa zoonose, visto os casos já descritos na literatura comprovando a presença do vírus rábico nessas espécies (ALMEIDA et al., 1994).

Atualmente, a presença de morcegos insetívoros em áreas urbanas parece ser mais freqüente, o que é um fato preocupante, pois segundo Doust, Wandeler e Cassey (1996), há relatos de que o vírus rábico pode passar dos morcegos insetívoros para os mamíferos terrestres. Isto torna o homem um alvo fácil de infecção pelo vírus rábico, ou por contato direto ao manusear morcegos infectados que invadem suas residências, ou indiretamente, pelo contato com animais domésticos, como o gato, previamente expostos ao vírus, no momento em que entram em contato com morcegos infectados.

O percentual relativamente alto de animais positivos sugere que a raiva constitui uma ameaça a Saúde Pública, devendo ser estudada detalhadamente, visando determinar a importância dos morcegos insetívoros na cadeia de transmissão do vírus, que não está completamente esclarecida. Portanto, faz-se necessário novos experimentos, com um número de amostras maior, com coletas realizadas em diferentes colônias, com espécies diferentes e em épocas distintas do ano, para que se possa quantificar melhor a presença do vírus rábico no meio urbano e o potencial risco de transmissão para espécie humana.

5- CONCLUSÕES

Através das técnicas utilizadas, conseguiu-se verificar a presença do vírus rábico em morcegos insetívoros da espécie *Molossus molossus*, na zona urbana no município de Patos-PB.

Através da prova de inoculação intracerebral em camundongos foi possível isolar o vírus rábico.

Apesar, do vírus rábico estar presente nos morcegos insetívoros (*Molossus molossus*), a importância destes na cadeia de transmissão do vírus, não está completamente esclarecida, portanto, faz-se necessário novos experimentos, com um número de amostras maior, com coletas realizadas em diferentes colônias, com espécies diferentes e em épocas distintas do ano, para que se possa quantificar melhor a presença do vírus no meio urbano e o potencial risco de transmissão para espécie humana.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 2 ed. Washington, Organizacion Panamericana de Salud, 1986. p.502-26. ✓

ALMEIDA, M. F.; AGUIAR, E. A. C.; MARTORELLI, L. F. A.; SILVA, M. M. S. Diagnóstico laboratorial de raiva em quirópteros realizado em área metropolitana na região sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v. 28, n. 5, 1994. p. 341-44.

ALVAREZ, E.; RUIZ, A.; **Municipios Libres de Rabia Canina: Uma proposta para su reconocimiento**. Documento de tabajo. Versión Preliminar, Mexico, 1998. Disponível em: <<http://www.panaftosa.org.br/novo/index.htm>> Acesso em: 04 de fevereiro de 2002.

ARAI, Y. T.; KUZMIN, I. V.; KAMEOKA, Y.; BOTVINKIN, A. D. New Lyssavirus genotype from the lesser mouse-eared bat (*Myotis blythi*), Kyrgyzstan. **Emerging Infectious Diseases**. v. 9, n. 3, 2003. p. 333-37. ✓

ATANASIU, P.; FUENZALIDA, E.; ACHA, P.; SZYFRES, B. Inmunidad antirrabica en bovinos vacunados. **Revista Veterinaria Venezolana**, v. 24, n. 142, 1968. p. 316-34. ✓

BAER, G. M.; Pathogenesis to the central nervous system. In BAER, G. M. **The natural history of rabies**. New York, Academic Press, v.1, 1975. p. 181-98. ✓

BAUER, A. G.; CRUSIUS, V. A. 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, 1965. p. 95.

BERNARDI, F.; GOMES, A. A. B.; ITO, F. H.; SAKAI, T. Raiva em morcegos não hematófagos. **Revista ARS Veterinária**. a.14, n. 2, 1998. p.186-92.

- BOURHY, H.; KISSI, B.; TORDO, N.; BADRANE, H.; SACRAMENTO, D. Molecular epidemiological tools and phylogenetic analysis of bacterial and viruses with special emphasis on lyssaviruses. **Preventive Veterinary Medicine**, v.25 1995 p.161-81
- BOURHY, H.; KISSI, B.; TORDO, N. Molecular diversity of the *Lyssavirus* genus. **Virology**. v. 194, 1993. p. 70-81.
- BOURHY, H.; SUREAU, P.; TORDO, N. From rabies to rabies-related viruses. **Veterinary Microbiology**. v. 23, 1990. p. 115-128.
- BRASS, D. A. Rabies in bats. **Natural history and public health implications**. Redgfield, Connecticut, Livia Press, 1994. 335p.
- BRAUND, K. G.; BREWER, B. D.; MAYHEW, I. G. Inflammatory, infectious, immune, parasitic and vascular diseases. In: OLIVER, J. E.; HOERLEIN, B. F.; MAYHEW, I. G. ed. **Veterinary Neurology**. W. B. Saunders, Philadelphia, 1987. p. 266-74.
- CAMPBELL, J. B.; CHARLTON, K. M. **Rabies**. Boston, Kluwer Academic Publisher, 1988. p. xi.
- CARINI, A. Sur une grande épizootie de rage. **Annales de L'Institut Pasteur**, v.25, 1911. p.843-46.
- CHARLTON, K. M. The pathogenesis of rabies. In: CAMPBELL, J.B.; CHARLTON, K.M. ed. **Rabies**. Boston, Kluwer Academic Publisher, 1988. P.101-50.
- CLARK, K. A. Raiva **Manual Merk de Veterinária**. 8ed São Paulo: Roca, 2001. 1861p
- CONSTATINE, D. G. Bats relation to the health welfare and economy of man. In: Wimatt, W. A. **Biology of bats**. New York, Academic Press, v.2, 1970. p.319-449.
- CONSTATINE, D. G. Un updated list of rabies infected bats in North America. **Journal Wildlife Diseases**, v.15, 1979. p.347-49.

CONSTANTINE, D.G. Health precautions for bat researchers. In: Kunz, T.H. **Ecological and behavioral methods for the study of bats**. Washington, S. Institute Press, 1988.

DEAN, D. J.; ABELSETH, M. K.; ATANASIU, P. The fluorescent antibody test. In: MELSIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**. 4 ed. Geneva: World Health Organization, 1996. p. 88-95.

DOUST, P. Y.; WANDELER, A. I.; CASSEY, G. A. Cluster of rabies cases of probable bat origin among red foxes in Prince Edward Island, Canada. **Journal of Wildlife Diseases**, v.32, n.2, 1996. p.403-06.

FENNER, R.; BACHMANN, P. A; GIBBS, E. P.; MURPHY, F. A; STUDERT, M. J.; WHITE, D. O. **Virologia veterinária**. Zaragoza, Acribia, 1992. p. 551-56.

FERNANDES, C. G.; Raiva. In: RIET-CORREA, F; SCHILD, A. L.; NENDEZ, M. D. C.; LEMOS, R. A. A.; **Doenças de ruminantes e eqüinos**. São Paulo: Varela, 2.ed. v.1 2003. p. 149-62.

GARDNER, S. D. Bat rabies in Europe. **Journal of Infectology**. v.18, 1989. p. 205-8.

GOULD, A. R.; HYATT, A. D.; LUNT, R.; KATTENBELT, J. A.; HENGSTBERGE, S.; BLACKSELL, S. D. Characterisation of a novel lyssavirus isolated from Pteropid bats in Australia. **Virus Research**. v. 54, 1998. p. 165-87.

GREENE C. E. Rabies. In: Greene C. E. ed. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat**. Philadelphia, W. B. Saunders, 1984, p. 356.

GOMES, A. A. B. **Epidemiologia da Raiva: Caracterização de vírus isolados de animais domésticos e silvestres do semi-árido paraibano da região de Patos, Nordeste do Brasil**. 2004. 107f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

INSTITUTO PASTEUR DE SÃO PAULO, 2001. Disponível em: <http://www.pasteur.saude.sp.gov.br/informacoes/informacoes_04.htm> Acesso em: 23 de novembro de 2001.

- JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. Rabies. **Pathology of Domestic animals**. 4.ed. Academic Press, San Diego. v. 3, 1993. 653 p.
- KAPLAN, C.; TURNER, G. S.; WARRELL, D. A. **Rabies: the facts**. 2 ed. Oxford, Oxford University Press, 1986. 126 p.
- KAPLAN, M. M.; KOPROWISK, H. **La rabia: técnicas de laboratório**. Genebra, OMS, 1976, 389 p.
- KING, A. A.; TURNER, G. S. Rabies: a review. **Journal of Comparative Pathology**, v. 108, n. 1, 1993. p. 1-39.
- KING, A.; CRICK, J. Rabies-related viruses. In: CAMPBELL, J. D.; CHARLTON, K. M. **Rabies**. Massachusetts, kluwer Academic Publishers, 1988. p.177-9.
- KOPROWSKI, H. The mouse inoculation test. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWISK, H. **Laboratory techniques in rabies**. 4ed. Geneva, World Health Organization, 1996. p. 80-7.
- KOTAIT, I.; GONÇALVES, C. A. Raiva. Aspectos gerais da enfermidade e seu controle. **Biológico**. São Paulo. a. 48, n. 9, 1982. 231-37.
- LARCHI, O. P. **Anticuerpos fluorescentes para rabia**. Buenos Aires. Centro Panamericano de Zoonosis, 1975.
- MARTORELLI, L. F. A.; AGUIAR, E. A. C.; ALMEIDA, M. F.; SILVA, M. M. S.; NOVAES, E. C. R. Isolamento do vírus rábico de morcego insetívoro *Myotis nigricans*. **Revista de Saúde Pública**, v. 29, n. 2, 1995. p.140-41.

- MELDRUM, K. C. [Ministry of Agriculture Fisheries and Food]. Rabies in the United Kingdom, Great Britain. **Disease Information**, v. 9, n. 22, 1996. p. 3-4.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. **Morcegos em áreas urbanas e rurais: manual de manejo e controle**. Gráfica e Editora Brasil, Brasília. 1996. 117 p.
- NOWAK, R. M. Order Chiroptera. In: WALKER, E. P. **Mammals of the World**. 3.ed. Baltimore, Academic Press, 1975.
- PASTORET, P. P.; BROCHIER, B.; THOMAS, I.; LEVEAU, T.; BAUDUIN, B.; COSTY, F. Fox rabies in Europe. **Irish Veterinary Journal**. v. 42, 1989, p. 93-5.
- PAWAN, J. L. The transmission of palitic rabies Trinidad by the vampire bats. **Tropical of Medical the Parasitology**. v.30, 1936. p.101-30.
- SCHNEIDER, L. G. Spread of virus from the central nervous system. In: BAER G. M.; ed. **The natural history of rabies**. New York, Academic Press, 1975. v.1, p. 273-301.
- SILVA, R. A. Isolamento de vírus rábico de morcego insetívoro da espécie *Phyllostomos hastatus hastatus*. **Archive of Institute the Biology Animmal**. v.4, 1961. p.115-20.
- SMITH, J. S. New aspects of rabies with emphasis on epidemiology, diagnosis, and prevention of the disease in the United States. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 9, n.3, 1996. p. 166-76.
- SMITH, J. S.; BAER, G. M. Epizzotiology of rabies: The Americas. In: CAMPBELL, J. B.; CHARLTON, K. M. Ed. **Rabies**. Boston, Kluwer Academic Publishers, 1988, p. 267-99.

SMITH J. S. Antigenic characteristics of isolates associated with a new epizootic of raccon rabies in the United States. **Journal the Infectology of Diseases** n. 149. 1984. 769 p.

STEELE, J. H. History of rabies. In: BAER, G. M., ed. **The natural history of rabies**. New York, Academic Press, v. 1, 1975, p. 1-29.

SUREAU, P.; ROLLIN, P.; WIKTOR, T. J. Epidemiologic analysis of antigenic variations of street rabies virus: detection by monoclonal antibodies. **American Journal of Epidemiology**, v. 117, n. 5, 1983. p. 605-09.

TADDEI, V. A. Morcegos: algumas considerações sistemáticas e biológicas. **Boletim Técnico de Assistência Tecnológica Integral**. n. 172 1983. p. 1-31.

TORDO, N. Characteristics and molecular biology of the rabies virus. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROVISKI, H. **Laboratory techniques in rabies**. Fourth edition. Geneva. World Health Organization. 1996. p. 28-51.

TORDO, N.; POCH, O. Structure of rabies virus. In: CAMPBELL, J. B.; CHARLTON, K. M. ed. **Rabies**. Boston, Kluwer Academic Publisher, 1988. p. 25-45.

TUTLE, M. D. Bats-order chiroptera. In: ALLEN, T. B.; SCOTT, S. L. **Wilds animals of North America**. Washington D. C., National Geographic Society, 1979. p. 47-76.

UIEDA, W.; HARMANI, N. M. S.; SILVA, M. M. S. Lista das espécies de morcegos diagnosticadas com raiva no Brasil. In: Seminário Nacional da Raiva, São Paulo, 1992. Resumo 12.

UIEDA, W.; HARMANI, N. M. S.; SILVA, M. M. S. Raiva em morcegos insetívoros (*Molossidae*) do Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.29, n.5, 1995. p.393-7.

VENTERS, H. D. Rabies in bats in Florida. **Journal of the Public Health**, v. 44, 1954. p. 182-85.

VIZOTTO, L. D.; TADEI, V. A. **Chave para determinação de quirópteros brasileiros**. São José do Rio Preto, 1973. p. 73.

WEBSTER W. A. Antigenic variants of rabies virus in isolates from eastern, central, and northern Canada. **Canine of the Journal Medical** n. 49. 1985. 186 p.

WILKINSON, L. Understanding the nature of rabies: an historical perspective. In: CAMPBELL, J. B.; CHARLTON, K. M. ed. **Rabies**. Boston, Kluwer Academic Publisher, 1988, p. 1-23.

WIKTOR, T. J.; KOPROWSKI, H. Monoclonal antibodies against rabies virus produced by somatic cell hybridization: detection of antigenic variants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 75, n. 8, 1978, p. 3938-942.

WORLD HEALTH ORGANIZATION **Expert committee on rabies**. Geneva. Eighth Report. Technical Report Series 824. 1993. 88 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION **World survey of rabies 27**. Geneva, (WHO/RABIES/93.209). 1992. p. 5-19.

