

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DA RAIVA BOVINA  
DE 1996 A 2007 NO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL**

Giovana Campos de Almeida Matta

CUIABÁ – MT

2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DA RAIVA BOVINA DE  
1996 A 2007 NO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL**

Autor: Giovana Campos de Almeida Matta

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Darci Lara Perecin Nociti

Co-Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adolorata Aparecida Bianco Carvalho

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração: Sanidade Animal, da faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

CUIABÁ – MT

2009

## DEDICATÓRIA

Ao meu filho Murilo, que nasceu durante o mestrado, trazendo-nos muita alegria, e serviu de incentivo para que eu chegasse até aqui.

Ao meu marido Alexandre, pelo seu amor, dedicação e compreensão, em todos os momentos da minha vida, em especial este.

Aos meus pais Rita de Cássia e Antonio Tadeu, por sempre acreditarem em mim e por serem a base daquilo que sou hoje.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar comigo nas horas boas e também na mais difíceis, e por me dar sabedoria para concluir mais uma etapa da minha vida.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Darci Lara Perecin Nociti, minha orientadora, pelos ensinamentos, pela amizade, compreensão, confiança e pelo apoio em todos os momentos.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adolorata Bianco de Carvalho, pela co-orientação e ensinamentos transmitidos.

Ao Prof. Fumio Honma Ito, da Universidade de São Paulo, por sua prontidão em nos ajudar com realização da extração dos ácidos nucleicos.

Aos Ph. D . Takuya Itou, Takeo Sakai, GO Sato, e aos Drs. Yuki Kobayashi e Nobuyuki Mochizuki, da Universidade de Nihon, Japão, pela colaboração através da realização do seqüenciamento genético e análise filogenética.

A Ricardo Perecin Nociti, pela colaboração na elaboração de dados estatísticos deste trabalho.

A todas as colegas da primeira turma do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela convivência e aprendizado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pelos ensinamentos transmitidos.

## RESUMO

### **CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DA RAIVA BOVINA ENTRE OS ANOS DE 1996 A 2007 NO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL**

Um levantamento epidemiológico de todos os casos de raiva bovina ocorridos no Estado de Mato Grosso durante os anos de 1996 a 2006 foi realizado pela análise da Curva Epidêmica, através do cálculo da somatória, média, desvio padrão, valores máximos e mínimos da ocorrência de casos de raiva nos três ecossistemas presentes no estado de Mato Grosso; a distribuição sazonal e a situação da doença no Estado em relação ao panorama nacional. Para organização dos dados, levou-se em consideração o mês e o ano de ocorrência da raiva e a região geográfica de origem do material. Os diferentes municípios envolvidos foram classificados conforme sua localização nas regiões de Cerrado, Pantanal e Amazônia. Além disso, 53 isolados de vírus rábico (VR) originários do Estado de Mato Grosso, Brasil, foram caracterizados geneticamente. Foi realizada a análise filogenética e geográfica do seqüenciamento parcial da nucleoproteína (gene N) desses isolados. Os isolados de bovinos, que se encontravam no grupo do VR (vírus rábico) relacionado a morcegos hematófagos, foi posteriormente subdividido em sete subgrupos genéticos. Estes subgrupos foram distribuídos em regiões de terras planas, com alguns subgrupos separados por formações de pequenas montanhas e hidrografia. Estes resultados indicam que a raiva dos bovinos é derivada de diversas variantes regionalmente definidas, o que sugere que sua distribuição geográfica está relacionada às populações de morcegos hematófagos. O levantamento desses dados teve como objetivo maior definir as características epidemiológicas da raiva bovina, com o intuito de auxiliar na prevenção e controle desta enfermidade no Estado de Mato Grosso.

**Palavras-chave:** vírus rábico, bovinos, epidemiologia, análise filogenética, análise geográfica, Mato Grosso.

## ABSTRACT

### MOLECULAR AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF BOVINE RABIES BETWEEN 1996-2007 IN MATO GROSSO, BRAZIL

An epidemiological survey of all cases of bovine rabies occurred in Mato Grosso during the years 1996 to 2006 was conducted by the analysis of the Epidemic Curve, by calculating the sum, average, standard deviation, maximum and minimum values of the occurrence of rabies in three ecosystems, the seasonal distribution and the disease situation in the state on the national scene. For data organization, it took into account the month and year of occurrence of rabies and geographic region of origin of the material. Classified the different cities involved as their location in regions of Cerrado, Pantanal and Amazon. And 53 rabies virus (RV) isolates originating from the state of Mato Grosso, Brazil cattle were genetically characterized. Partial nucleoprotein gene sequences of these isolates were phylogenetically and geographically analyzed. Cattle isolates, which clustered with the vampire bat related RV group, were further subdivided into seven subgroups. These subgroups were distributed widely in lowland regions, with some subgroups separated from each other by little mountain ranges. These results indicate that cattle rabies is derived from several regionally-defined variants, which suggests that its geographical distribution is related to that of the vampire bat population. The survey of data could establish the epidemiological features of bovine rabies in order to assist in the prevention and control of this disease in Mato Grosso.

**Key-words:** rabies virus, cattle, epidemiology, phylogenetic analyze, geographical analyze, Mato Gross

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1:	Número de amostras e municípios positivos para raiva bovina distribuídos nos municípios de Mato Grosso – 1996 – 2006.....	30
Tabela 2:	Ocorrência de raiva bovina no Brasil, por região – 1996 – 2006.....	31
Tabela 3:	Quantidade e percentagem de municípios de cada bioma com casos de raiva bovina distribuídos conforme o ano de ocorrência no estado de Mato Grosso, Brasil – 1996 – 2006.....	33
Tabela 4:	Quantidade e porcentagem de casos de raiva bovina distribuídos conforme bioma – Mato Grosso, Brasil – 1996 – 2006.....	34
Tabela 5:	Média, valores mínimos e máximos para a ocorrência de casos de raiva nos três ecossistemas, Mato Grosso, Brasil – 1996 – 2006.....	36
Tabela 6:	Distribuição do efetivo bovino nos municípios caracterizados pelos três biomas, conforme a ocorrência de raiva bovina – Mato Grosso – 1996 – 2006.....	40
Tabela 7:	Número de casos de raiva bovina conforme mês de ocorrência, nos diferentes biomas– Mato Grosso – 1996 – 2006.....	41
Tabela 8:	Casos de raiva bovina distribuídos conforme mês de ocorrência – Mato Grosso – 1996 – 2006.....	42



**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1: Distribuição dos biomas no estado de Mato Grosso.....	25
Figura 2: Curva epidêmica dos casos de raiva de 1996 a 2006 no cerrado.....	36
Figura 3: Curva epidêmica dos casos de raiva de 1996 a 2006 no pantanal.....	37
Figura 4: Curva epidêmica dos casos de raiva de 1996 a 2006 na Amazônia.....	37
Figura 5: Árvore filogenética baseada no seqüenciamento parcial do gene N.....	46
Figura 6: Distribuição geográfica das amostras isoladas de bovinos divididas em sete subgrupos na análise filogenética.....	50

**LISTA DE GRÁFICOS**

Gráfico 1:	Número de casos de raiva bovina no bioma cerrado, entre 1996 a 2006 no estado de Mato Grosso.....	39
Gráfico 2:	Número de casos de raiva bovina no bioma pantanal, entre 1996 a 2006..no estado de Mato Grosso...	39
Gráfico 3:	Número de casos de raiva bovina no bioma Amazônia, entre 1996 a 2006..no estado de Mato Grosso.	40
Gráfico 4:	Cronologia de casos de raiva dos bovinos em Mato Grosso, no período de 1996 a 2006.....	43
Gráfico 5:	Cronologia dos casos de raiva dos bovinos nos três ecossistemas de Mato Grosso, no período de 1996 a 2006.....	43

## LISTA DE ABREVIATURAS

% - por cento

® - marca registrada

°C - graus Celsius

A.C. – antes de Cristo

ABL – “Australian Bat Lyssavirus”

CVS – “Challenge Vírus Standard”

D.C. – depois de Cristo

DNA - ácido desoxirribonucléico

EBL 1 – “European Bat Lyssavirus 1”

EBL 2 – “European Bat Lyssavirus 2”

ELISA - “enzyme-linked immunosorbent assay”

FAVN – “fluorescent antibody virus neutralization test”

FUNASA – Fundação Nacional de Saúde

hn RT-PCR – “heminested polymerase chain reaction with reverse transcriptase”

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IFD – imunofluorescência direta

IIC – inoculação intra-cerebral em camundongos

INDEA – Instituto de Defesa Agropecuária do Estado de Mato Grosso

Kdal – kilodalton

km - kilometro

Km<sup>2</sup> - quilômetro quadrado

LASA – Laboratório de Apoio à Saúde Animal

m - metro

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

n RT-PCR – “nested polymerase chain reaction with reverse transcriptase”

nm – nanômetro

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal

OMS – Organização Mundial de Saúde

OPAS – Organização Pan americana de Saúde

PCR – “polymerase chain reaction”

PNCRH – Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros

PV – Pasteur Vírus

RFFIT – “rapid fluorescent focus inhibition test”

RNA – ácido ribonucléico

RNP - ribonucleoproteína

RT-PCR – “polymerase chain reaction with reverse transcriptase”

SEPLAN – Secretaria de Planejamento do Estado de Mato Grosso

SNC – sistema nervoso central

U\$ - dólares

VR – vírus rábico

WHO – “World Health Organization”

X – média

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	4
2.1	História da raiva.....	4
2.2	Etiologia.....	7
2.3	Distribuição.....	10
2.4	Epidemiologia.....	10
2.5	Patogenia.....	14
2.6	Sinais clínicos nos herbívoros.....	16
2.7	Diagnóstico.....	17
2.7.1	TÉCNICAS MOLECULARES.....	19
2.8	Prevenção e controle.....	22
3	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
3.1	Organização dos dados.....	24
3.2	Análise da curva epidêmica.....	24
3.3	Análise estatística entre o efetivo bovino e o número de casos de raiva bovina	26
3.4	Seleção das amostras de vírus.....	26
3.5	Extração de RNAs.....	26
3.6	RT-PCR.....	27
3.7	Análise genética e filogenética.....	27
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	29

4.1	Ocorrência de casos de raiva bovina conforme município e ano, dentre as amostras examinadas no Estado de Mato Grosso, Brasil.....	29
4.2	Distribuição dos casos de raiva bovina conforme município e ano de ocorrência dentro de cada bioma, Estado de Mato Grosso, Brasil, entre os anos de 1996 a 2006.....	32
4.3	Distribuição de casos de raiva bovina conforme bioma do Estado de Mato Grosso, Brasil, entre os anos de 1996 a 2006.....	33
4.4	Distribuição do efetivo bovino do Estado de Mato Grosso nos municípios caracterizados pelos três biomas.....	38
4.5	Sazonalidade de casos de raiva dos bovinos nos três biomas do Estado de Mato Grosso, no período de 1996 a 2006.....	41
4.6	Análise filogenética e distribuição geográfica.....	44
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	52
6	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	53
7	<b>APÊNDICES</b>	71

## INTRODUÇÃO

A raiva é uma das mais sérias e disseminadas zoonoses do mundo. Descrita pelo menos há quatro milênios, a raiva é uma das doenças infecciosas mais antigas que se tem conhecimento (RUPPRECHT, STOHR, MEREDITH, 2001). Trata-se de uma enfermidade que acomete todos os animais de sangue quente e causa uma encefalomielite aguda e fatal, resultante principalmente da transmissão do vírus pela mordida de um animal doente (ACHA & SZYFRES, 1986; KAPLAN & KOPROWSKI, 1980). Está incluída dentro da lista de enfermidades transmissíveis a múltiplas espécies, da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2004) e a Organização Mundial de Saúde (OMS) considera como raiva a doença nervosa em animais e no ser humano causada apenas por vírus do genótipo I do gênero *Lyssavirus* (WHO, 1994).

Os cães ainda são responsáveis pela manutenção da doença em muitos países da África, Ásia e América Latina, onde as estruturas veterinárias e sanitárias são inadequadas (ACHA & SZYFRES, 1986). Por outro lado, na Europa e América do Norte, onde programas de vacinações em cães e gatos estão bem estabelecidos, o vírus da raiva persiste predominantemente em animais selvagens como: raposas, guaxinins, gambás, chacais e morcegos (WHO, 1992). Morcegos hematófagos, que estão distribuídos por toda América Latina, transmitem o vírus da raiva para espécies de herbívoros e são reconhecidos como principais reservatórios na raiva dos herbívoros (ARELLANO-SOTTA, 1988; DIAZ et al., 1994; MAYEN, 2003).

Avila Pires (1965) cita que a doença já devia existir, de forma endêmica, entre os animais silvestres, em áreas recém colonizadas. Mas as condições artificiais criadas pelo homem, os grandes rebanhos concentrados em áreas reduzidas e desmatadas abrem caminho à possibilidade de surtos epizooticos de grandes proporções entre os animais domésticos.

A raiva dos herbívoros, principalmente a raiva dos bovinos, transmitida pelos morcegos hematófagos, representa uma importante limitação ao desenvolvimento da pecuária na América Latina. Para Acha (1967), a grande repercussão da raiva na pecuária mundial, são as perdas calculadas de 500.000 cabeças de bovinos por ano, em conseqüência da infecção quando a doença é transmitida pelos morcegos hematófagos aos herbívoros, recebendo a denominação de 'raiva paralítica'.

Estimativa no Brasil indica um prejuízo direto de aproximadamente U\$ 25 milhões de dólares a cada ano, com morte de 40.000 bovinos e perdas indiretas de aproximadamente U\$ 32 milhões de dólares (KOTAIT et al., 2001).

O *Desmodus rotundus* é uma espécie de quiróptero colonial não migratória que vive tanto em abrigos naturais quanto em abrigos artificiais próximos a habitações humanas (ARELLANO-SOTA, 1988). Uma vez que os morcegos hematófagos alimentam-se de sangue de mamíferos, a distribuição de sua população é afetada pela disponibilidade de comida e pela distribuição de animais domésticos, em especial os bovinos (ARELLANO-SOTA, 1988; MCCOLL et al., 2000). Conseqüentemente a ocorrência de raiva na população de morcegos hematófagos está intimamente ligada à incidência de raiva em bovinos (FORNES et al., 1974; LORD, 1992; CONSTANTINE, 1988).

No Brasil, a caracterização antigênica e genética de amostras de vírus da raiva tem possibilitado a diferenciação em pelo menos duas variantes: variante canina (variante 1) e variante de morcego hematófago *Desmodus rotundus* (variante 3) (ITO, 2005). Dentre as espécies de morcegos hematófagos, o *Desmodus rotundus* é o mais abundante nas Américas, e tem sido considerado o maior responsável pela transmissão da raiva aos herbívoros (BELLOTO, 2001).

O vírus rábico relacionado aos morcegos hematófagos tem sido tipificado geneticamente e caracterizado como espécie específico (ITO et al., 2001). Atualmente, diversas variantes do VR têm sido identificadas baseadas na sua distribuição geográfica, que possivelmente reflete sua associação com a ecologia dos morcegos hematófagos (KOBAYASHI et al., 2006; VELASCO-VILLA et al., 2006; BARBOSA et al., 2008).

No Brasil, para fins de controle da raiva em herbívoros, principalmente a raiva bovina, é realizado o controle das populações de morcegos hematófagos através de métodos de captura e utilização de pasta vampiricida a base de varfarina nos morcegos e a vacinação dos rebanhos (MAYEN, 2003; ARELLANO-SOTA, 1988). O conhecimento das características epidemiológicas da raiva transmitida pelo *Desmodus rotundus* é muito importante para aumentar a eficácia dessas medidas de controle contra a transmissão da raiva para os bovinos.

O Estado de Mato Grosso possui uma área de 903.357,908 km<sup>2</sup>, 141 municípios e três biomas: Cerrado, Pantanal e Amazônia. Possui o maior rebanho bovino do país, com 26.208.468 animais e é o maior exportador de carne bovina do



Brasil (INDEA-MT, 2007). Frente a este quadro econômico, é de extrema importância o conhecimento da epidemiologia da raiva bovina no estado de Mato Grosso, por se tratar de uma doença fatal, que causa sérios prejuízos econômicos em toda América Latina e que ainda é subnotificada no estado, dificultando o conhecimento da atual situação da enfermidade no rebanho bovino de Mato Grosso. Portanto, acredita-se que este estudo irá contribuir com o controle e profilaxia desta enfermidade funesta no estado de Mato Grosso, uma vez que até o momento, poucos são os estudos acerca da epidemiologia da raiva em bovinos no território mato-grossense.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 História da raiva

A palavra “raiva” provém do latim *rabere*, que significa delirar, desvairar, que por sua vez tem sua origem no sânscrito antigo, *rabhas*, cuja tradução é “fazer violência” (BERAN, 1994; STEELE; FERNANDEZ, 1991).

O “código de Eshnunna” elaborado na Mesopotâmia, no século 23 A.C., especifica e determina a quantia que deveria ser paga se uma pessoa morresse em decorrência da mordida de um cachorro louco. Os registros, na antiga Babilônia, relatam a transmissão de raiva por cães para pessoas, através de mordedura, com uma visão epidemiológica utilizada até os dias de hoje. A raiva e sua forma de transmissão foram também relatadas na Grécia desde o século III D.C. Aristóteles a descreveu em camelos e cavalos. Filomeno, erudito grego, estimou seu período de incubação variando de 40 dias a vários anos. (SILVA, 2000).

Cardanus, um escritor romano, descreveu a infectividade da saliva dos cães raivosos como um “material venenoso”, cuja palavra latina era “vírus”. Outra possível causa, segundo Pliny e Ovid, seria a presença de um “verme da língua do cão” (STEELE; FERNANDEZ, 1991).

Celsus, físico do século I, foi enfático ao dizer que todos os animais que continham o “veneno” eram perigosos para o homem e para outros animais. Afirmava ainda que a hidrofobia, como chamavam os gregos, caracterizava-se por uma pessoa atormentada, com sede e com medo de água concomitantemente. Foi o primeiro a recomendar o tratamento da ferida com substâncias cáusticas, fogo, aplicação de sal, sangria por meio de ventosas ou sugadura, cada método com sua indicação (STEELE; FERNANDEZ, 1991).

Nas Américas, a raiva canina foi citada pela primeira vez no México (1709) e em Barbados (1741). No período de 1768 a 1771 foi descrita uma epizootia na cidade de Boston, Estados Unidos, transmitida por raposas e cães. Na América Latina a raiva é conhecida desde as primeiras expedições colonizadoras, quando homens e animais morreram em consequência da enfermidade transmitida por morcegos hematófagos. Supostamente a raiva canina foi introduzida através de

cães infectados que vieram acompanhando estes colonizadores (SCHNEIDER, 1990).

Foi a partir do século XIX que a ciência deu um grande salto no conhecimento da raiva e descobertas muito importantes ocorreram. Em 1804, Zinke demonstrou pela primeira vez que a raiva poderia ser transmitida pela saliva, infectando a partir de incisões superficiais na pele do animal sadio com a saliva do animal doente. Escreveu um livro sobre a fonte, a patogênese e o tratamento da doença, em que ainda observava-se traços de superstição, mas já com algumas idéias modernas, como por exemplo, a lavagem de feridas por horas (STEELE; FERNANDEZ, 1991).

Em 1879, Galtier, médico veterinário professor da Escola de Veterinária de Lion, na França, demonstrou a transmissão da doença em coelhos, observando-se um período de incubação de 18 dias, paralisia e convulsões. Não expôs, porém, com muitos detalhes o método de transmissão (STEELE; FERNANDEZ, 1991).

O trabalho definitivo sobre a transmissão da raiva foi realizado por Louis Pasteur. Em 1881, concluiu que o sistema nervoso central (SNC) estava envolvido no desenvolvimento da doença, provando que o vírus não estava presente somente na saliva. Posteriormente, descobriu que, injetando-se material de SNC de um animal raivoso diretamente no cérebro de outro animal, o período médio de incubação era de duas semanas. Em 1884, por meio de experimentos, concluiu que todo SNC era susceptível à raiva, levantando-se ainda a suspeita de que o microorganismo envolvido seria muito pequeno. Além disso, com a colaboração de Chamberland e Roux, estudou a atenuação do vírus (STEELE; FERNANDEZ, 1991). Neste mesmo ano, demonstrou com sucesso a primeira imunização em cães e no ano seguinte, em um garoto de nove anos, Joseph Meister. Em ambos os casos, o tratamento realizou-se pós-exposição, utilizando-se suspensão da medula espinhal de coelhos infectados e obtendo sucesso nos resultados (BERAN, 1994, LEÃO, 1997).

Os estudos de Pasteur e seu grupo permitiram o desenvolvimento de métodos de imunização anti-rábica cada vez mais satisfatórios, sendo o marco fundamental dos progressos no combate à raiva (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

A natureza viral do agente infeccioso da raiva foi definitivamente esclarecida por Remlinger em 1903, ao demonstrar sua filtrabilidade e no mesmo ano, Aldechi Negri descreveu os corpúsculos de inclusão em células nervosas de cérebros de cães acometidos de raiva, pensando, entretanto, que estes eram um estágio de

desenvolvimento de protozoários. A controvérsia protozoário ou vírus persistiu até a década de 1930, quando o vírus foi isolado em cultura celular. No diagnóstico da doença, o desenvolvimento da Prova de Inoculação em camundongos (WEBSTER & DAWSON, 1939) foi um marco na história da raiva. Descobriram que o camundongo era suscetível a viroses neurotrópicas e observaram que a raiva era reproduzida por inoculação intracerebral de amostra de cérebro de cão que continha o corpúsculo de Negri. Com o teste em camundongos, constatou-se que em apenas 85% a 90% dos casos positivos de raiva eram encontrados os corpúsculos de Negri ao exame microscópico (SILVA, 2000; STEELE e FERNANDEZ, 1991).

Goldwasser e Kissiling, em 1958, reportaram a aplicação do teste de imunofluorescência direta (IFD) para demonstrar o antígeno da raiva no tecido do SNC. O teste também tem sido utilizado para vários outros tecidos como células da córnea, mucosa oral-nasal e bulbo capilar, porém, seu uso mais freqüente é em tecido cerebral “post mortem” (BERAN, 1994). Ainda hoje, o teste de IFD e o teste de IIC são considerados os testes de eleição para o diagnóstico da raiva (MESLIN; KAPLAN, 1996).

A raiva paralítica de bovinos foi diagnosticada pela primeira vez por Carini (1911) no estado de Santa Catarina, quando corpúsculos de Negri foram visualizados nos tecidos nervosos de cérebros de bovinos mortos por uma doença misteriosa. Os colonos da região acreditavam que a doença era causada pelos morcegos hematófagos e Carini mencionou este fato em seu artigo publicado no *Annales de L'Institut Pasteur* de Paris, quando então os pesquisadores da época classificaram-na como “fantasia tropical”, pois o mundo relutava em aceitar que os morcegos pudessem ser reservatórios do vírus, uma vez que Louis Pasteur afirmava que “para ser raiva, tinha que ter o envolvimento de um cão raivoso” no processo de transmissão, mas nos episódios de Santa Catarina não havia relatos de ocorrência da doença em cães. A “crendice popular” divulgada por Carini foi mais tarde confirmada por Haupt & Rehaag (1925) que, a convite do governo catarinense, visitaram a região durante a epidemia, entre os anos 1914 e 1916 (ITO, 2005; SILVA, 2000).

O vírus foi isolado pela primeira vez em morcegos insetívoros por Pawan, em 1936, na Ilha de Trinidad, onde no período de 1925 a 1936, foram registrados 89 óbitos humanos pela doença (ACHA, 1967; CONSTANTINE, 1970).

## 2.2 Etiologia

O vírus rábico pertence à ordem *Mononegavirales*, família *Rhabdoviridae*, e ao gênero *Lyssavirus*. Neste gênero estão agrupados o vírus da raiva e os vírus relacionados genética e antigenicamente, sendo todos adaptados à replicação no sistema nervoso central (RUPPRECHT; HALLON; HEMACHUDHA, 2002). Apresenta morfologia característica em forma de projétil, diâmetro de 75 nm e comprimento de 100 a 300 nm (KAPLAN et al, 1986; TORDO, 1996; TORDO & POCH, 1988). O vírus da raiva é constituído por dois elementos estruturais principais: uma ribonucleoproteína (RNP) complexa e o envelope que envolve a RNP. A RNP apresenta-se firmemente enrolada e com simetria helicoidal. A RNP é formada por um genoma (ácido ribonucléico – RNA), de aproximadamente 12.000 nucleotídeos, possui fita simples, polaridade negativa e não segmentado (MCCOLL, TORDO, SÉTIEN, 2000). Estudos bioquímicos têm demonstrado que além do RNA o vírus é composto estruturalmente por cinco proteínas: uma RNA polimerase RNA-dependente (proteína L de 190 KDal), responsável pelas atividades enzimáticas necessárias para transcrição e replicação do RNA viral, uma glicoproteína de superfície (proteína G de 65 a 80 KDal), uma nucleoproteína (proteína N de 57 a 62 KDal), que é um dos maiores componentes do vírus e a maior proteína interna do complexo helicoidal (WUNNER, 2002). É fosforilada em um único sítio, exercendo a função de proteger a RNP (TORDO, 1996) e é a mais importante no processo de encapsidação (TORDO et al., 1986). Uma fosfoproteína (proteína P, NS ou M1 de 35 a 41 KDal), que é uma proteína multifuncional e um componente chave do complexo RNA polimerase associada ao vírion, sendo uma proteína regulatória na replicação do genoma viral, e uma proteína matriz (proteína M ou M2 de 22 a 25 KDal) (BOURHY et al., 1990; SMITH, 1996; TORDO, 1996; WUNNER, 2002).

Mediante estudos sorológicos, o gênero *Lyssavirus* era subdividido em sorotipos (GOULD et al., 1998). Porém, os conhecimentos advindos do uso de anticorpos monoclonais (MABs), dos progressos da engenharia genética e da biologia molecular, modificaram os conceitos relacionados ao “vírus de rua”, permitindo tipificar as amostras de vírus mediante avaliação antigênica (FLAMAND et al., 1980) e genética (TORDO et al., 1986). Em 1994, os especialistas da raiva, reunidos em Niagara Falls, EUA, propuseram a denominação de “genótipos” em

substituição aos “sorotipos”, até então utilizados para designar os diferentes membros do gênero *Lyssavirus* (WHO, 1994). Desta forma, com base na seqüência do genoma do nucleocapsídeo, o vírus da raiva passou a ser dividido em: genótipo 1, que compreende as amostras clássicas de vírus da raiva, (Pasteur Virus – PV, Challenge Virus Standard – CVS, entre outras) notadamente amostras vacinais e amostras de “vírus de rua” isoladas de animais domésticos e silvestres, dentre estes os morcegos hematófagos e não hematófagos das Américas; genótipo 2 correspondente à amostra “Lagos Bat virus”, isolada de morcegos frugívoros *Eidolon helvum*, na África; genótipo 3 que corresponde à amostra “Mokola virus”, isolada do mussaranho (*Crocidura* sp.), na província de Ibadan, Nigéria, e posteriormente do homem, cães, gatos e roedores, sendo o único *Lyssavirus* não isolado de morcegos. genótipo 4, amostra “Duvenhage virus”, isolado do homem e morcegos insetívoros *Nycterus thebaica*, na África; genótipos 5 e 6, identificados como “European Bat *Lyssavirus*” (EBL1 e EBL2), isolados de morcegos *Eptesicus serotinus*, *Myotis dasycneme* e *M. daubentoni*, respectivamente, na Europa (BOURHY et al., 1993; BRASS, 1994); e o “Australian Bat *Lyssavirus*” (ABL) que também é distinto geneticamente e classificado como genótipo 7 (GOULD et al., 1998; POUNDER, 2003).

Por meio de técnicas moleculares, tem se desenvolvido o estudo filogenético destes vírus, sendo que os 7 genótipos foram divididos em 2 filogrupos: o filogrupo 1, composto pelos GT1, GT4, GT5, GT6 e GT7 e o filogrupo 2, composto pelo GT2 e GT3. Estudos revelaram ainda que existe uma variação de patogenicidade entre os dois filogrupos e com relação à imunidade, a neutralização cruzada ocorre somente dentro do filogrupo, mas não entre os filogrupos (BADRANE et al., 2001; TORDO et al., 2003).

Atualmente, são conhecidas mais quatro variantes virais, que foram sugeridas para constituírem novos genótipos de *Lyssavirus*, todas isoladas de morcegos. Em 2003, foi descrita a variante “Aravan Virus”, isolada de um morcego insetívoro *Myotis blythi*, no Quirquístão, Ásia Central (ARAI et al., 2003; KUZMIN et al., 2003). Outra variante, a Khujand, foi isolada em 2001 no noroeste do Tadjiquístão, Ásia Central, também de um morcego insetívoro (*Myotis mystacinus*) (KUZMIN et al., 2001; 2003). As outras duas variantes foram isoladas na Rússia, uma obtida na cidade de Irkutsk, denominada “Irkut Virus”, isolada de um morcego *Murina leucogaster* e a outra, obtida da região oeste das montanhas do Cáucaso,

denominada “West Caucasian Bat Virus”, isolada a partir de um morcego *Miniopterus schreibersi* (BOTWINKIN et al., 2003). Nos últimos anos, os relatos de isolamento de vírus da raiva ou de vírus aparentados à raiva a partir de morcegos de diferentes hábitos alimentares tornaram-se freqüentes no mundo todo, muitos desses foram denominados de “*lyssavirus*” emergentes. Para Fooks (2004), estes RNA vírus denominados de “emergentes” evidentemente não se encontram em estado de “estase genética” e, através de mecanismos de “transposição” (*spill-over* ou *species-jumping*), mutação, imuno-evasão e adaptação do vírus aos novos hospedeiros, novos vírus poderão emergir no futuro como patógenos afetando o ser humano. No continente americano e no Caribe, até o momento, não foi registrada a presença de outros genótipos do *Lyssavirus*, a não ser o genótipo I .

O vírus da raiva, usualmente de transmissão pelo contato direto, é pouco resistente aos agentes químicos (éter, clorofórmio, sais minerais, ácidos e álcalis fortes), aos agentes físicos (calor, luz ultravioleta) e às condições ambientais como dessecação, luminosidade e temperatura excessiva (SWANGO, 1992; ZEE, 1992). No caso da desinfecção química de instrumentais cirúrgicos, vestuários ou do ambiente onde foi realizada a necropsia de um animal raivoso, foram indicados o formol a 10%, glutaraldeído entre 1% a 2%, ácido sulfúrico a 2%, fenol e ácido clorídrico a 5%, creolina a 1%, entre outros. Como medida de desinfecção de ambientes, as soluções de formalina entre 0,25 % e 0,90 % e de bicarbonato de sódio entre 1% e 2 % inativam os vírus de forma rápida e eficiente. A perda de sua infecciosidade à temperatura de 80°C ocorreu em 2 minutos, à luz solar em 14 dias a 30°C ou ainda, quando carcaças de animais infectados com vírus da raiva foram expostas à temperatura de 18°C por 23 dias, e à 37°C, por cinco dias. Na dependência das condições ambientais adversas, o vírus pode manter sua infecciosidade por períodos relativamente longos, sendo inativado naturalmente pelo processo de autólise. (ITO , 2005).

### 2.3 Distribuição

A raiva causada pelos vírus do gênero *Lyssavirus*, genótipo I é um problema presente em todos os continentes, com exceção da Oceania. Alguns países das Américas (Uruguai, Barbados, Jamaica e Ilhas do Caribe), da Europa (Portugal, Espanha, Irlanda, Grã-Bretanha, Países Baixos e Bulgária) e da Ásia (Japão) encontram-se livres da doença. Entretanto, outros países da Europa (França, Inglaterra) e da América do Norte (EUA e Canadá) enfrentam problemas quanto ao ciclo silvestre da doença (OIE, 2004).

### 2.4 Epidemiologia

Embora todos os animais vertebrados de sangue quente sejam suscetíveis à infecção experimental, apenas os mamíferos são importantes na epidemiologia da raiva. Existem mais de 4.000 espécies na classe Mammalia, todos teoricamente suscetíveis e capazes de infectar outros mamíferos (RUPPRECHT, STOHR, MEREDITH, 2001), observando-se dentro deste grupo alguns mais aptos que outros na dispersão do vírus rábico e uma variação de suscetibilidade entre as espécies (KAPLAN, 1985). O vírus já foi isolado de quase todas as ordens de mamíferos, porém os que são considerados reservatórios pertencem principalmente às ordens Carnívora e Chiroptera (ACHA; SZYFRES, 2003; RUPPRECHT; HALLON; HEMACHUDHA, 2002).

A epidemiologia dos *Lyssavirus* é influenciada, em parte, pela distribuição, abundância, demografia, hábitos comportamentais, dispersão das espécies reservatórias, assim como suas interações com os seres humanos (RUPPRECHT et al., 1995).

Tradicionalmente, o ciclo de transmissão da raiva pode ser dividido em dois ciclos inter-relacionados: o ciclo urbano e o ciclo silvestre (KING, 1993, ACHA; SZYFRES, 2003). Entretanto, segundo Rupprecht, Stohr e Meredith (2001), essa descrição muito simplificada do ciclo silvestre e urbano não permite esclarecer a real dinâmica da doença. No Brasil, o ciclo silvestre da raiva é mantido por morcegos



hematófagos transmissores da doença aos bovinos, outros mamíferos silvestres e, ocasionalmente ao homem; o ciclo urbano normalmente é mantido pelo cão doméstico (GERMANO et al., 1990).

O VR parece ter nos morcegos hematófagos, o melhor e o mais eficiente veículo de propagação, uma vez que estes agredem diariamente outros animais (suas presas para se alimentar, e/ou seus próprios companheiros, nas interações sociais agressivas). Essas agressões envolvem, principalmente, mordeduras e outros tipos de comportamento interativo. Assim, um morcego hematófago infectado tem chances diárias e freqüentes de transmissão, sendo por isso, responsável pela infecção direta de animais domésticos e, eventualmente, de seres humanos. Quando transmitida através de mordeduras, a doença geralmente segue um curso paralítico (FUNASA, 1998).

Desde 1988, os morcegos hematófagos tornaram-se a segunda fonte de infecção mais importante da raiva para os humanos no Brasil, sendo esta classificação antes pertencente aos gatos domésticos (ALMEIDA et al., 2001). No entanto, em 2004, observou-se pela primeira vez um número maior de casos de raiva em humanos transmitida por morcegos hematófagos (22 casos) em relação aos casos transmitidos por cães (05 casos) (OPAS, 2004). No entanto, outras espécies de quirópteros são também passíveis de transmitir o agente (GERMANO, 1994).

Nas Américas, as espécies de morcegos *Desmodus rotundus*, *Tadarida brasiliensis*, *Eptesicus fuscus*, *Lasiurus borealis*, *Lasiurus cinereus*, *Lasionycteris noctivagans*, *Pipistrellus subflavus* e espécies do gênero *Myotis*, foram todos identificados como reservatórios de variantes distintas do vírus da raiva (MORIMOTO et al., 1996; NADIN-DAVIS et al., 2001). Essas variantes do VR geralmente são separadas em divisões filogenéticas que representam o estilo de vida de seus hospedeiros quirópteros, por exemplo, migratório ou não migratório, colonial ou solitário, insetívoro ou hematófago (NADIN-DAVIS et al., 2001). Enquanto a maioria dessas variantes permanecem somente no meio de seus hospedeiros específicos, fazendo raramente eventos de “spillover” com mamíferos terrestres, algumas estão associadas a infecções de espécies não quirópteras, especialmente humanos e animais domésticos (FAVI et al., 2002; ITO et al., 2001a). No Brasil, a caracterização antigênica e genética de amostras de vírus da raiva tem possibilitado a diferenciação em pelo menos duas variantes: variante canina

(variante 1) e variante de morcego hematófago *Desmodus rotundus* (variante 3) (ITO, 2005).

Os morcegos hematófagos são encontrados desde o Norte do México até o Norte da Argentina e em algumas ilhas do Caribe, em regiões com altitudes abaixo de 2.000 m. No mundo, apenas três espécies de morcegos possuem hábito hematófago: o *Desmodus rotundus*, *Dyphilla ecaudata* e *Diaemus youngi*. Dentre as espécies de morcegos hematófagos, o *Desmodus rotundus* é o mais abundante nas Américas, e tem sido considerado o maior responsável pela transmissão da raiva aos herbívoros, embora haja relatos de isolamento do VR de morcegos *D. ecaudata* e *D. youngii* (BELLOTO, 2001), porém, estes últimos se alimentam quase que exclusivamente de aves (CRESPO, 2000).

Isolamento de VR também já foi descrito em diversas outras espécies de animais silvestres da fauna brasileira, tais como as raposas (*Dusicyon vetulus*), jaritacacas (*Conepatus* sp), guaxinins (*Procyon cancrivorous*) e sagüis (*Calithrix jachus*). Em condições naturais, estes animais eventualmente também podem servir de fontes de alimento para os morcegos hematófagos. Os herbívoros podem também se infectar pela agressão de cães, gatos e outros animais silvestres infectados (ITO, 2005).

Na América pré-colombiana as populações de morcegos hematófagos estavam provavelmente ajustadas à disponibilidade de alimento, representada pela fauna silvestre. A chegada do homem europeu e a conseqüente introdução de animais exóticos na região, determinaram uma condição potencial para o crescimento populacional desses quirópteros (UIEDA, 1996).

Avila Pires (1965) cita que a doença já devia existir, de forma endêmica, entre os animais silvestres, em áreas recém colonizadas. Mas as condições artificiais criadas pelo homem, os grandes rebanhos concentrados em áreas reduzidas e desmatadas abriram caminho à possibilidade de surtos epizooticos de grandes proporções entre os animais domésticos.

No Brasil, a raiva dos herbívoros pode ser considerada endêmica e em graus diferenciados, de acordo com a região. Os principais fatores que contribuem para que a raiva nos herbívoros domésticos no Brasil se dissemine ainda de forma insidiosa e preocupante são: aumento da oferta de alimento, representado pelo significativo crescimento dos rebanhos; ocupação desordenada, caracterizada por macromodificações ambientais, como desmatamento, construção de rodovias e

hidroelétricas, que alteraram o ambiente em que os morcegos viviam, obrigando-os a procurar novas áreas e outras fontes de alimentação; oferta de abrigos artificiais, representados pelas construções, como túneis, cisternas, casas abandonadas, bueiros, fornos de carvão desativados e outros (DELPIETRO, 2000); atuação insatisfatória, em alguns estados brasileiros, na execução do Programa Estadual de Controle da Raiva dos Herbívoros (BRASIL, 2005).

A transmissão geralmente ocorre pela mordida de um animal infectado, via saliva contendo o vírus. Há menor possibilidade do vírus ser introduzido em cortes ou lesões existentes na pele, ou através da membrana mucosa intacta ou lesionada, como é o caso da mucosa conjuntiva ou olfatória. Raramente a transmissão tem sido relatada por outras vias não salivares, incluindo a transmissão via aerossóis em cavernas onde há morcegos infectados ou experimentalmente em laboratório (FRASER et al., 1991; SWANGO, 1992). Em 1956, foi registrado um caso de raiva humana em um indivíduo que trabalhava em cavernas com morcegos, porém sem histórico de mordedura ou outro contato com algum animal suspeito. Após investigação epidemiológica, a hipótese mais plausível foi de que o indivíduo se infectara através da inalação de partículas virais em suspensão na caverna (BRASS, 1994; WARREL; WARREL 2004). A infecção por via aerógena também foi demonstrada, em condições naturais, quando animais sadios foram colocados dentro de grutas onde viviam grandes colônias de morcegos infectados (CONSTANTINE, 1962). De acordo com Jackson (2002), para que ocorra a transmissão por via aerógena é necessária uma grande população de morcegos infectados em local não ventilado. A transmissão pela via digestiva também já foi relatada experimentalmente (SWANGO, 1992). Fischman & Ward III (1968 apud THONGCHAROEN, 1981) verificaram a transmissão oral de um vírus CVS em camundongos lactentes, hamsters, coelhos e cobaios e observaram que a infecção de fêmeas de camundongos após a ingestão de filhotes infectados era freqüente. Em humanos, já foi relatada a transmissão em pacientes que receberam transplantes de córnea infectada.

Em bovinos, a morbidade é variável, pois depende de fatores bio-epidemiológicos como a densidade populacional do morcego hematófago dentro da área de um foco, e também do manejo sanitário dentro de cada estabelecimento, principalmente da maior ou menor rapidez em se efetuar a vacinação nos momentos de risco (DELPIETRO, 2001). Com relação à mortalidade, a doença apresenta 100%

de letalidade nas espécies de animais incluídos no Código Sanitário para os Animais Terrestres da OIE (OIE, 2004).

Para Acha (1967 apud KOTAIT et al., 2001), a grande repercussão da raiva na pecuária mundial, são as perdas calculadas em 500.000 cabeças de bovinos por ano, em consequência da infecção. Estimativa mais recente no Brasil indica um prejuízo direto de aproximadamente U\$ 25 milhões de dólares a cada ano, com morte de 40.000 bovinos e perdas indiretas de aproximadamente U\$ 32 milhões de dólares.

## 2.5 Patogenia

O período de incubação da raiva natural em animais e no ser humano é muito variável. No ser humano, o período médio é de 20 a 60 dias, embora haja relatos de períodos excepcionalmente longos. Por sua vez, a determinação do período de incubação da raiva em animais é de difícil comprovação, dada à dificuldade em registrar o momento exato da infecção viral. Entretanto, em estudos de infecção experimental realizados em diferentes animais, com uso de amostras de vírus de diferentes origens têm apresentado variações, com períodos extremamente longos ou demasiadamente curtos (ITO, 2005).

Em herbívoros, o período de incubação (PI) varia entre 25 a 90 dias (KOTAIT, 1998). Em bovinos experimentalmente expostos a morcegos *D. rotundus* infectados, e mantidos em condição de campo, o PI variou entre 60 a 75 dias. Em bovinos inoculados experimentalmente, o PI variou de 25 a 611 dias. A variabilidade do período de incubação depende de fatores como: capacidade invasiva, patogenicidade, carga viral do inóculo inicial, ponto de inoculação (quanto mais próximo do sistema nervoso central, menor será o período de incubação), idade e imunocompetência do animal (ITO, 2005).

Como mencionado anteriormente, o principal modo de transmissão é a mordedura, na qual o vírus presente na saliva do animal é inoculado, através da pele, no músculo e em tecidos subcutâneos (WARREL; WARREL, 2004).

Uma vez ocorrida a introdução do vírus da raiva no organismo, este pode atingir o Sistema Nervoso Central (SNC) migrando via terminações nervosas

presentes no local do ferimento, ou pode replicar-se e ampliar-se na musculatura local e posteriormente invadir as terminações periféricas (FENNER, et al., 1993). Lewis, Fu e Lentz (2000) pesquisaram a entrada do vírus nos neurônios, concluindo que a junção neuromuscular é o principal local de entrada. Existem ainda dois receptores na membrana neuronal em que o vírus pode se ligar: a molécula de adesão da célula neuronal (THOULOZE et al., 1998) e o receptor de neurotropina p75 (TUFERREAU et al., 1998). Além disso, os receptores de N-metil-D-aspartato subtipo R1 e do GABA, que são neurotransmissores do SNC, são também possíveis receptores do vírus da raiva (GOSZTONYI; LUDWIG, 2001). Após replicação nas junções neuro-musculares, o genoma viral é transportado no interior do axoplasma dos neurônios centripetamente, à razão de 50 a 100 mm por dia (TSIANG, 1991; WARREL; WARREL, 2004), até os gânglios espinhais, passando então, à medula e, finalmente, por ser neurotrópico, chega ao SNC, onde causam uma encefalomielite aguda, com lesões irreversíveis que provocam paralisias musculares e morte, normalmente por asfixia. Quando atinge o SNC, uma replicação intensa acontece nas membranas dentro dos neurônios e a disseminação ocorre de célula para célula atravessando as junções sinápticas (WARREL; WARREL, 2004). A glicoproteína, presente na superfície externa do envelope viral, tem uma participação muito importante na dispersão trans-sináptica do vírus entre os neurônios (ETESSAMI et al., 2000). A partir do SNC o vírus dissemina-se de maneira centrífuga, via nervos periféricos, em direção a diversos órgãos, envolvendo particularmente o sistema nervoso parassimpático (JACKSON, 2002). Os órgãos invadidos pelo vírus durante a migração centrífuga incluem o coração, fígado, pele, timo, rins, ovários, útero, glândula adrenal, pulmão, baço, intestinos, músculos liso e esquelético, folículos pilosos, epitélio da língua, retina e córneas (BRASS, 1994; MATTOS et al., 2001, RUPPRECHT, 2001) e especialmente as glândulas salivares, sendo eliminado através da saliva, tornando possíveis novas transmissões (MURPHY, 1985).

## 2.6 Sinais clínicos nos herbívoros

Em herbívoros, a doença apresenta-se tanto na forma parálitica, como na furiosa, sendo a primeira a mais freqüente (LANGOHR et al., 2003; SUMMERS et al., 1995). Na forma furiosa, o animal acometido pode atacar outros animais ou procura investir contra seres humanos, geralmente apresenta-se em estado de alerta, emitindo mugidos roucos e freqüentes. (FRASER et al., 1991).

Quando se trata de raiva transmitida por morcegos, não foram observadas diferenças acentuadas entre as manifestações clínicas observadas nos bovinos, eqüinos, asininos, muares e outros animais domésticos de importância econômica (caprinos, ovinos e suínos). O sinal inicial é o isolamento do animal, pois este se afasta do rebanho, apresentando certa apatia e perda do apetite. Pode apresentar-se de cabeça baixa e indiferente ao que se passa ao seu redor. Seguem-se outros sinais como aumento da sensibilidade e prurido na região da mordedura, mugido constante, tenesmo, com fezes duras, secas e brilhantes, hiper-excitabilidade, aumento da libido, salivação abundante e viscosa e dificuldade na deglutição (BRASIL, 2005).

Com a evolução da doença, há o aparecimento de movimentos desordenados da cabeça, tremores musculares e ranger de dentes, midríase com ausência de reflexo pupilar, incoordenação motora, andar cambaleante, contrações musculares involuntárias, flacidez da cauda e da musculatura do trem posterior, paresia e paralisia flácidas, além de paralisia dos esfíncteres anal e da bexiga (RONDON, 1995; LANGOHR et al., 2003). Após entrar em decúbito não consegue mais se levantar e ocorre o aparecimento de movimentos de pedalar dos membros anteriores e posteriores, dificuldades respiratórias, opistótono, asfixia e morte. Esta última ocorre, geralmente, entre 3 a 6 dias após o início dos sinais, podendo prolongar-se em alguns casos, por até 10 dias (GRENN et al., 1993; RIET-CORREA et al., 1998).

## 2.7 Diagnóstico

A observação clínica permite levar somente à suspeição da raiva, pois, os sinais da doença não são característicos e podem variar de um animal a outro ou entre indivíduos da mesma espécie (ITO, 2005).

O diagnóstico laboratorial é de fundamental importância para a confirmação da doença e permite eleger estratégias e definir os planos de intervenção. Todos os animais domésticos ou silvestres, suspeitos de raiva, devem ser submetidos à necropsia. O cérebro deverá ser retirado por um profissional habilitado (médico veterinário autônomo ou oficial), devidamente treinado, e enviado a um laboratório de diagnóstico credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA e/ou pelo Ministério da Saúde, para a realização do exame (BRASIL, 2005).

Os métodos utilizados para o diagnóstico da raiva apresentam variação na sua eficiência, especificidade e confiança. Classicamente são aplicados nos materiais do encéfalo, porém podem também ser aplicados para outros órgãos como glândula salivar, córnea, saliva, folículo piloso, tecido de biópsia e outros órgãos não nervosos. O teste mais amplamente utilizado para o diagnóstico da raiva é o de IFD, recomendado pela OMS e pela OIE. Utiliza-se um conjugado anti-rábico policlonal marcado pelo isotiocianato de fluoresceína, desde o relato de Goldwasser & Kissling (1958), modificado por Dean, Albeseth e Atanasiu (1996). É um método rápido, sensível e seguro, e poderia ser considerado suficiente para o diagnóstico da doença em animais e humanos (WHO, 1992). Porém, permanece ainda a questão não resolvida de resultados falso-positivos e falso-negativos, decorrente do uso dessa técnica. Para minimizar esses erros, a OMS preconiza o uso de pelo menos duas técnicas para o estabelecimento do diagnóstico: a IFD e a IIC (DEAN; ALBESETH; ATANASIU 1996; KOPROWSKI, 1996).

Os testes de detecção da replicação viral detectam a infecciosidade da amostra, com inoculação da suspensão em sistemas biológicos, permitindo o “isolamento” do agente. É utilizado concomitantemente ao teste da IFD, conforme preconizado pela OMS (MESLIN; KAPLAN.; KOPROWSKI, 1996). No teste de inoculação em camundongo, um grupo de camundongos, com idade de 3 a 4 semanas (12 a 14 g), ou uma ninhada de camundongos neonatos de 2 dias de idade, são inoculados intracerebralmente. O inóculo é constituído por uma suspensão

clarificada de homogêneo de material cerebral a 20% (p/v) em solução tamponada contendo antibióticos. Os camundongos adulto-jovens são observados por 30 dias e todo camundongo morto é examinado pela técnica de IFD, para confirmação. O teste “*in vivo*” em camundongos é oneroso, e deve ser substituído, quando possível, por cultivo celular (OPAS, 2003). As linhagens BHK-21 (células de rim de hamster recém-nascido) e a NA (neuroblastoma murino) são as mais comumente utilizadas (BORDGNON; ZANETTI, 2000). A replicação dos vírus é revelada pela IFD. O resultado do teste é obtido 18 horas pós-inoculação (um ciclo reprodutivo do vírus nas células), geralmente a incubação é continuada por 48 horas e, em alguns laboratórios, por até 4 dias. Este teste é tão sensível quanto ao teste de inoculação em camundongos. Uma vez existindo a unidade de cultura celular no laboratório, este teste deve substituir o teste de inoculação em camundongos evitando assim, o uso de animais vivos, é também menos oneroso e apresenta um resultado diagnóstico mais rápido (WHO, 1992). Cuidados adicionais devem ser levados em conta para o emprego desta técnica no diagnóstico de rotina da raiva, pois, as células são susceptíveis à contaminação e lise por causa das bactérias, fungos, outros vírus e devido às toxinas presentes no tecido suspeito. Deve-se também utilizar antibióticos adequados no meio de cultura a fim de aumentar a resistência contra as contaminações bacterianas (WEBSTER; CASEY, 1988).

Há ainda outros testes de identificação, como o anátomo-patológico. Os achados histológicos são variáveis, distribuindo-se principalmente 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). As lesões são caracterizadas por acúmulos perivasculares com infiltrado celular, principalmente de linfócitos, e em menor grau, macrófagos e plasmócitos (CARLTON & MCGAVIN 1998, LANGOHR et al., 2003), microgliose, às vezes acentuada, graus variáveis de degeneração neuronal e ganglioneurite (CARLTON & MCGAVIN, 1998) e necrose neuronal (LANGOHR et al. 2003). Inclusões acidofílicas intracitoplasmáticas, denominadas corpúsculos de Negri, características da doença (SWANEPOEL 1994, JONES et al. 2000), podem ser encontradas em diferentes áreas do sistema nervoso central, embora sejam mais freqüentes nas células de Purkinje do cerebelo dos bovinos (JONES et al. 2000; LANGOHR et al. 2003; SWANEPOEL 1994).



Esfregaços do tecido fresco podem ser corados pelo método de Sellers ou Faraco, ou materiais fixados em formol e embebido em parafina podem ser cortados em micrótomo e corados por hematoxilina e eosina. Estes métodos histológicos tendem a ser abandonados, especialmente o de Sellers, por ser ineficientes quando a amostra está em estado de decomposição, e ainda podem acusar 15% a 40% de resultados falsos negativos (ITO, 2005).

Os anticorpos monoclonais contra o vírus rábico foram produzidos pela primeira vez por Wiktor e Koprowski (1978) e atuam na glicoproteína ou no nucleocapsídeo viral. Com esta técnica foi possível caracterizar e classificar o vírus rábico e os vírus relacionados, além de permitir a diferenciação de vírus isolados de hospedeiros terrestres e de morcegos nos Estados Unidos, na Europa, Ásia, África e América Latina. Embora ela seja usada principalmente em investigações epidemiológicas, tem se mostrado útil no diagnóstico em certas circunstâncias, como nos casos de raiva humana “importada” e de casos sem histórico de exposição (MESLIN; KAPLAN, 1996; SMITH et al., 1991).

As provas sorológicas são aplicadas para se conhecer a resposta imunológica de pessoas ou animais vacinados, as evidências de infecções não fatais e também em experimentos que envolvem a patogenia. Utilizam-se frequentemente os ensaios enzimáticos (ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (BERAN, 1994) e os testes de soro-neutralização em cultivos celulares como o teste inibição rápida de focos fluorescentes (RFFIT – “Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test”) (SMITH; YAGER; BAER, 1973) e o teste fluorescente de vírus neutralização (FAVN – “Fluorescent Antibody Virus Neutralisation Test”) (CLIQUET; AUBERT; SAGNÈ, 1998).

### 2.7.1 TÉCNICAS MOLECULARES

A reação em cadeia pela polimerase (PCR) provavelmente constitui o maior avanço na biologia molecular desde o advento da tecnologia do DNA recombinante (FENNER et al., 1993) e vem sendo considerada como uma alternativa para o diagnóstico, a tipificação e o estudo da epidemiologia molecular do vírus rábico (TORDO et al., 1996).

A identificação do vírus rábico pode ser caracterizada em laboratórios especializados, através da identificação de qualquer variante viral de uma amostra, utilizando-se anticorpos monoclonais, ácidos nucléicos específicos, ou reação de cadeia polimerase seguida por seqüenciamento de RNA das áreas genômicas. Algumas técnicas podem distinguir entre amostras de campo e amostras vacinais, e possivelmente identificar a origem geográfica das amostras de campo. Esses testes muito sensíveis devem ser realizados por pessoas treinadas e em laboratórios especializados (OIE, 2004).

A técnica de PCR, utilizada rotineiramente para DNA, pode ser modificada para a detecção do RNA viral por incorporação de um passo preliminar no qual a transcriptase reversa converte o RNA em DNA, constituindo a RT-PCR. Com este método, o RNA do vírus rábico pode ser enzimaticamente amplificado como cópias de DNA (FENNER et al., 1993).

Sacramento et al. (1991) desenvolveram um protocolo para realização da técnica de RT-PCR como método alternativo para o diagnóstico e estudos de epidemiologia molecular dos vírus rábicos.

Atualmente a técnica de RT-PCR tem sido usada para diagnósticos rápidos de casos de raiva, assim como, detecção e identificação de genótipos do vírus rábico e vírus rábicos relacionados, além de estudos epidemiológicos, permitindo estratégias de controle específico a serem implementadas ( NADIN-DAVIS, 1998).

ERMINE et al., (1990) realizaram um experimento utilizando a técnica de PCR para amplificar o ácido nucléico de vírus rábico, de cérebros de camundongos, antes de realizarem a técnica de hibridização, possibilitando o uso do PCR associado à hibridização no diagnóstico da raiva, principalmente nos primeiros estágios de inoculação.

Kamolvarin et al., (1993) detectaram RNA viral através de PCR usando "nested primers". A seqüência de nucleocapsídeo rábico foi amplificada em amostras de cérebro de 95 cães e 3 humanos, com raiva confirmada por IFD e IIC. Outras 110 amostras de cérebro de cães e 2 de humanos negativas para raiva na IFD e IIC resultaram também negativas no PCR.

Heaton et al., (1997) detectaram seis dos sete genótipos do vírus rábico e vírus rábicos relacionados existentes, realizando um estudo da sensibilidade da heminested RT-PCR (hn RT-PCR) em amostras de cérebros infectados com vírus

rábico, positivas a IFD demonstrando 100% de concordância entre os resultados da hn RT-PCR e da IFD.

Whitby et al., (1997) desenvolveram um método rápido de detecção de vírus rábico e vírus rábicos relacionados, utilizando a técnica de RT-PCR, associado a um teste de ELISA, onde os produtos amplificados na reação de PCR puderam ser detectados pelo ensaio imunoenzimático.

Outra aplicação do uso da técnica de RT-PCR foi demonstrada por Kulonen et al., (1999), que realizaram RT-PCR em amostras de tecidos cerebrais positivos para raiva, confirmada pela IFD, e que estavam fixados em “Carnoy” e embebidas em parafina. A técnica de RT-PCR demonstrou 100% de sensibilidade frente a IFD.

Heaton et al., (1999) detectaram e identificaram vírus rábico e vírus rábicos relacionados usando “rapid-cycle RT-PCR” ou RT-PCR em tubos capilares, e através dessa técnica foram capazes de diagnosticar raiva em humanos em um período de cinco horas.

Na Estônia, duas amostras diferentes de vírus rábico foram identificadas utilizando a técnica de PCR, mostrando sua aplicação em investigações epidemiológicas e surtos, podendo ocorrer infecções mistas em áreas geográficas próximas (KULONEN & BOLDINA, 1993).

Ito et al., (2001a) detectaram RNA de vírus rábico isolado de diferentes espécies animais no Brasil (5 morcegos hematófagos, 14 bovinos, 12 cães, 11 gatos, 2 cavalos, 1 suíno, 1 ovino e 3 humanos), de diferentes regiões geográficas pela técnica de RT-PCR. Concluíram que os vírus rábicos isolados no Brasil podem ser divididos em duas populações de acordo com diferenças genéticas.

No Brasil, Soares et al., (2002) utilizaram a reação do hn RT-PCR para detecção de vírus rábico isolado de morcegos hematófagos e herbívoros, mostrando ser a técnica eficiente na amplificação dos vírus rábicos isolados do ciclo epidemiológico rural.

## 2.8 Prevenção e controle

Como não existe tratamento para raiva, estimular a indução de uma resposta imunológica por meio da vacinação é um dos procedimentos profiláticos imprescindível em regiões onde existe o risco da doença.

Para imunização em bovinos, existem as vacinas de vírus vivo atenuado e vacinas de vírus inativado. Vacinas de vírus atenuado não são recomendadas, pois podem induzir a ocorrência da doença (WHO, 2004).

No Brasil, a partir de 2002, o MAPA proibiu a comercialização e utilização de vacinas com vírus vivo atenuado. (BRASIL, 2002).

As vacinas comerciais com vírus inativado produzidas atualmente, no Brasil, são todas preparadas em culturas celulares e acrescidas de adjuvante. Isto faz com que a resposta imunológica seja quantitativamente e qualitativamente equiparada às das vacinas de vírus atenuado, quando conservadas em condições ideais. Alguns autores, embora considerando que as vacinas de vírus inativado não mostram as vantagens das atenuadas, quanto à rapidez da resposta imune, ressaltam as vantagens de serem inócuas e mais termoestáveis (KOTAIT et al., 1998; VAZ, 1999).

Observações realizadas em países latino-americanos demonstraram que a raiva dos bovinos apresenta caráter focal, portanto, seria possível proteger o gado da raiva transmitida por morcegos hematófagos mediante a vacinação focal e perifocal sem necessidade de recorrer a campanhas dispendiosas de vacinação em massa. No entanto, são necessários estudos epidemiológicos e um sistema de vigilância adequado para cada região (OPAS, 2003).

Devido à diversidade de reservatórios para este vírus, que acomete tanto animais domésticos quanto silvestres, o controle da raiva animal também é um grande desafio e a sua erradicação, questionável (FU, 1997)

Outro método de controle da raiva dos herbívoros baseia-se no controle das populações de morcegos hematófagos. Esses métodos de controle podem ser divididos em método seletivo direto e método seletivo indireto. O método seletivo direto consiste em capturar o *Desmodus rotundus* com rede de neblina, com posterior aplicação de produto anticoagulante a base de warfarina em seu dorso e liberá-lo. Ao retornar para os abrigos, estes indivíduos estabelecerão contato físico

com outros membros da colônia, difundindo o produto para os demais. Essa técnica pode ser executada junto aos abrigos naturais e artificiais (grutas, furnas, túneis, ocos de árvore etc.) ou junto à fonte de alimento (currais, pocilgas, galinheiros, etc.) e deve ser realizada somente por técnicos treinados. (BRASIL, 2005).

No método seletivo indireto, o controle é realizado através do uso tópico de substâncias químicas anticoagulantes, usadas no animal sugado, ao redor das mordeduras. Neste sistema de controle são eliminados apenas os morcegos hematófagos espoliadores dos animais domésticos, podendo ser realizado pelo produtor, com orientação do médico veterinário (BREDT et al., 1996).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Organização dos dados**

Os dados analisados foram obtidos a partir de 2.225 amostras de tecido encefálico de bovinos suspeitos de raiva, de sexo, idades e raças variadas, provenientes de 136 municípios do estado de Mato Grosso durante o período de 1996 a 2006. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Apoio à Saúde Animal (LASA), do Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso (INDEA/MT). O método diagnóstico utilizado, conforme recomendação da Organização Mundial de Saúde, foi a técnica de Imunofluorescência Direta (IFD) com o uso de conjugado anti-rábico policlonal marcado pelo isotiocionato de fluoresceína (GOLDWASSER & KISSLING, 1958) e a prova biológica de inoculação intracerebral em camundongos (IIC) (DEAN; ALBESETH; ATANASIU, 1996 e KOPROWISKI, 1996).

Para organização dos dados, levou-se em consideração o mês e o ano de ocorrência da raiva e a região geográfica de origem do material com base no mapa de divisão de biomas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2008). Com a colaboração da Secretaria de Planejamento do Estado de Mato Grosso (SEPLAN), classificou-se os diferentes municípios envolvidos conforme sua localização nas regiões de Cerrado, Pantanal e Amazônia (Figura 1).

#### **3.2 Análise da curva epidêmica**

A análise da curva epidêmica foi feita por meio do cálculo da somatória, média, desvio padrão, valores máximos e mínimos da ocorrência de casos de raiva nos três ecossistemas do estado de Mato Grosso, Brasil, entre os anos de 1996 a 2006 (GOMES, 1967; JEKEL, 1999).



### **3.3 Análise estatística entre o efetivo bovino e o número de casos de raiva bovina**

A análise estatística entre o efetivo bovino e o número de casos de raiva bovina foi feita através do programa Mini tab 1.4, onde foi realizado o teste ANOVA, através de comparações entre o efetivo bovino do Cerrado, Amazônia e Pantanal, e número de casos de raiva ocorridos no Cerrado, Amazônia e Pantanal, no período de 1996 a 2006. O nível de significância foi obtido através do teste de Tukey, com grau de confiabilidade de 5% (YULE et al., 1948; JEKEL, 1999).

### **3.4 Seleção das amostras de vírus**

Foram selecionadas 70 amostras de tecido encefálico provenientes de bovinos de diferentes idades, sexo e raças, coletadas no ano de 2007, sendo que 53 foram aproveitadas para realização de tipificação genética molecular. Dentre as amostras analisadas, 37 pertenciam ao bioma Cerrado, 12 ao Pantanal e 04 à Amazônia. Todas as amostras foram diagnosticadas positivas para raiva pelo teste de IFD, e isoladas em camundongos pela prova de IIC.

### **3.5 Extração de RNAs**

Os ácidos nucleicos foram extraídos com o kit diagnóstico comercial QIAamp® Viral RNA (QIAGEN, Hilden, Alemanha), seguindo o protocolo do fabricante. A extração foi realizada no Laboratório de Zoonoses Virais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, USP.



### 3. 6 RT-PCR

A técnica de RT-PCR e a purificação dos produtos amplificados foi realizada no Laboratório de Zoonoses Virais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, USP. O protocolo utilizado foi o descrito por KOBAYASHI et al., (2005), com a amplificação da seqüência de 203 nucleotídeos do gene que codifica a nucleoproteína N, que corresponde as posições 109 a 311 da amostra PV (Pasteur Virus). Este lócus está associado a divergências filogenéticas de pares e o mesmo já foi utilizado em outros estudos filogenéticos (ITO, 2001b).

Os produtos amplificados foram confirmados pela eletroforese em gel agarose 1,5%, com coloração de brometo de etídio, e o cDNA foi purificado com o kit QIAquick Gel Extraction® (QIAGEN, Hilden, Alemanha).

Os produtos amplificados do PCR e do nested-PCR foram enviados ao Laboratório Central de Diagnóstico, do College of Bioresource Sciences, da Universidade de Nihon, Fujisawa, Kanagawa, Japão, para fins de seqüenciamento, análises genética e filogenética.

### 3.7 Análise genética e filogenética

Os estudos dos alinhamentos de nucleotídeos entre as amostras foram realizados pelo software Clustal X (THOMPSON et al., 1997), e a árvore filogenética foi construída utilizando-se o método de SAITOU e NEI (1987), com o algoritmo de “Neighbor-Joining” e vírus Mokola foi utilizado como grupo externo. A significância estatística das filogenias construídas foi estimada por meio da análise de “bootstrap” de 1.000 replicações. Os grupamentos com valores de bootstrap maiores que 70% foram interpretados como evidência de grupamento filogenético (HILLS; BULL, 1993) e a homologia entre as seqüências de nucleotídeos foi identificada usando-se o software BIOEDIT (HALL, 1999).

As origens geográficas do seqüenciamento de isolados do VR de bovinos foram plotadas a nível municipal dentro do estado de Mato Grosso, utilizando-se o

software MapInfo Professional GIS (ver. 8.0 software MapInfo Japan K. K., Tokyo, Japan). Por meio destas análises, foram deduzidas as linhagens das variantes do vírus da raiva encontradas no Estado de Mato Grosso.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Ocorrência de casos de raiva bovina conforme município de ano, dentre as amostras examinadas no Estado de Mato Grosso, Brasil.

A Tabela 1 mostra que dos 141 municípios do Estado de Mato Grosso, 42 (29,8%) encaminharam amostras para diagnóstico da raiva e, em 20 (14,2%) constatou-se positividade no ano de 1996. Neste ano foram recebidas 115 amostras que resultaram em 35 (30,4%) animais positivos nos exames. Em 1997, foram 75 (53,2%) municípios que encaminharam amostras para diagnóstico da raiva e, em 19 (13,5%) houve positividade. Das 142 amostras recebidas, 40 (28,2%) foram positivas. No ano de 1998 foram 55 (39,0%) municípios que encaminharam amostras cujo diagnóstico foi confirmado em 22 (15,6%) desses municípios. Das 206 amostras examinadas, 65 (31,6%) foram positivas. Em 1999, 50 (35,5%) municípios encaminharam material suspeito para análise, sendo que destes, 18 (12,8%) foram diagnosticados positivo. Das 180 amostras encaminhadas, 64 (35,6%) obtiveram resultado positivo. No ano 2000, 72 (51,1 %) municípios enviaram amostras para diagnóstico, e destes, 30 (21,3%) municípios resultaram em positivos. Foram enviadas 183 amostras, das quais 57 (31,2%) foram positivas. No ano de 2001, 71 (50,4%) municípios encaminharam amostras para diagnóstico, sendo que, destes, 24 (17,0%) obtiveram positividade. Das 214 amostras encaminhadas, 58 (27,1%) foram positivas ao diagnóstico. Em 2002, 75 (53,2%) municípios enviaram amostras para análise, dos quais 30 (21,3%) resultaram positivos. Em 267 amostras encaminhadas, 76 (28,5%) foram diagnosticadas positivas. No ano de 2003, foram 75 (53,2%) municípios que encaminharam amostras para análise, onde 27 (19,2%) resultaram positivos. Das 218 amostras recebidas, 61 (28,00%) foram positivas. No ano de 2004, 70 (49,6%) municípios encaminharam material, cujo diagnóstico foi confirmado positivo em 31 (22,0%) municípios. Das 202 amostras examinadas, 77 (38,1%) foram positivas. Em 2005, 77 (54,6%) municípios encaminharam amostras cujo diagnóstico foi positivo em 34 (24,1%) destes municípios. Das 199 amostras encaminhadas, 83 (41,7%) resultaram positivas. Por fim, no ano de 2006, foram remetidas amostras provenientes de 75 (53,2%) municípios, onde 33 (23,4%)

obtiveram resultado positivo. Das 299 amostras remetidas, 129 (43,1%) resultaram positivas.

**Tabela 01- Número de amostras e municípios positivos para raiva bovina distribuídos nos municípios de Mato Grosso - 1996 - 2006**

Ano	Amostras examinadas	Amostras Positivas	% positivas	Nº de municípios que enviaram amostras	Nº de municípios com amostras positivas	% municípios com casos de raiva em relação aos enviados	% total
1996	115	35	30,4	42	20	47,7	14,2
1997	142	40	28,2	75	19	25,3	13,4
1998	206	65	31,6	55	22	40,0	15,6
1999	180	64	35,6	50	18	36,0	12,8
2000	183	57	31,2	72	30	41,7	21,3
2001	214	58	27,1	71	24	33,8	17,0
2002	267	76	28,5	75	30	40,0	21,3
2003	218	61	28,0	75	27	36,0	19,2
2004	202	77	38,1	70	31	44,3	22,0
2005	199	83	41,7	77	34	44,2	24,1
2006	299	129	43,1	75	33	44,0	23,4
<b>Total</b>	<b>2225</b>	<b>745</b>	<b>33,5</b>	<b>136</b>	<b>95</b>	<b>69,9</b>	<b>67,4</b>

Fonte: INDEA (Dados não publicados).

No contexto geral do período de 1996 a 2006, das 2.225 amostras com suspeitas clínicas, foram confirmadas laboratorialmente 745 (33,5%) casos de raiva bovina em 95 (67,4%) dos 141 municípios do Estado de Mato Grosso e 69,9% sobre os 136 municípios que enviaram.

No período total do estudo, todos os estados do Brasil notificaram 14.100 casos, dos quais 745 (5,3%) foram do Estado de Mato Grosso (Tabela 2), havendo um aumento na ocorrência dos casos de raiva, assim como outros estados, e diferente de alguns estados onde houve decréscimo no número de casos e outros que mantiveram a mesma proporcionalidade de ocorrência. Observamos em Mato Grosso que houve um crescimento linear de casos notificados ao longo do período estudado. É possível que isto venha ocorrendo em razão da recente implantação do

PNCRH em Mato Grosso, cujas ações só começaram a ser executadas a partir do ano 2000. Espera-se que com as ações cada vez mais efetivas do programa, o estado de Mato Grosso apresente aumento no números de casos, aproximando de valores mais substanciais, com o aumento de notificações, e a partir da conscientização de produtores e efetiva fiscalização, ocorra a *posteriori*, uma queda nos números de casos de raiva bovina, em decorrência da eficácia do PNCRH.

Com relação ao número de casos de raiva durante o período estudado em Mato Grosso, em vista ao tamanho do seu rebanho bovino, os valores estão muito aquém da realidade. De acordo com Kotait et al. (1998), para cada caso de raiva bovina notificado, cerca de 10 casos não o são. Esta afirmação corrobora com a situação atual da raiva bovina no Brasil, principalmente no estado de Mato Grosso, onde o elevado número de subnotificações compromete o programa de controle desta enfermidade.

Como o Estado de Mato Grosso possui o maior rebanho bovino do país, uma área territorial de quase um milhão de quilômetros quadrados e três biomas diferenciados, a incrementação de medidas profiláticas mais efetivas contra a raiva deve ser priorizada. Segundo Lord (1988) e Taddei (1991), a velocidade de migração da raiva pode alcançar valores variando de 10 a 200 km/ano. Por outro lado, devem ser avaliadas as condições ambientais favoráveis à manutenção do agente etiológico e disseminação deste pelos morcegos que encontram alimento em abundância principalmente no gado bovino.

**Tabela 02 – Ocorrência de raiva bovina no Brasil, por região - 1996 - 2006**

	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	Total
<b>Norte</b>	10	16	57	14	54	51	87	126	117	97	67	696
<b>Nordeste</b>	86	68	97	135	99	109	133	99	149	106	110	1.191
<b>Sudeste</b>	769	905	743	1.102	1.147	855	609	564	443	438	390	7.965
<b>Sul</b>	111	46	77	49	75	58	145	116	131	126	297	1.231
<b>Centro-oeste</b>	107	89	176	169	258	361	403	402	352	385	317	3.019
<b>MT</b>	35	40	65	64	57	58	76	61	77	83	129	747
<b>Brasil</b>	<b>1.083</b>	<b>1.128</b>	<b>1.148</b>	<b>1.468</b>	<b>1.633</b>	<b>1.434</b>	<b>1.375</b>	<b>1.304</b>	<b>1.191</b>	<b>1.164</b>	<b>1172</b>	<b>14.100</b>

Fonte: MAPA (dados não publicados).

#### **4.2 Distribuição dos casos de raiva bovina conforme município e ano de ocorrência dentro de cada bioma, no Estado de Mato Grosso, Brasil, entre os anos de 1996 a 2006.**

Observando-se a ocorrência da raiva bovina conforme o ecossistema de origem (Tabela 3), constatou-se que os casos, no ano de 1996, estavam distribuídos em 15 (15,8%) dos 95 municípios do Cerrado, em 3 (75%) dos 4 municípios do Pantanal e em 2 (4,8%) dos 42 municípios da Amazônia. No ano de 1997 foram atingidos 10 (10,5%) municípios do Cerrado, 3 (75%) municípios do Pantanal e 6 (14,3%) municípios da Amazônia. Em 1998 foram observados casos em 18 (18,9%) municípios do Cerrado, em 2 (50,0%) municípios do Pantanal e em 2 (4,8%) municípios da Amazônia. No ano de 1999, foram confirmados 12 (12,6%) casos em municípios do Cerrado, 3 (75%) em municípios do Pantanal e 3 (7,1%) em municípios da Amazônia. Em 2000, foram atingidos 21 (22,1%) municípios do Cerrado, 4 (100,0%) municípios do Pantanal e 4 (9,5%) municípios da Amazônia. No ano de 2001, constatou-se casos da enfermidade em 15 (15,8%) municípios do Cerrado, 2 (50,0%) em municípios do Pantanal e 7 (16,7%) em municípios da Amazônia. Em 2002 foram diagnosticados casos em 19 (23,1%) municípios do Cerrado, 3 (75,0%) municípios do Pantanal e 7 (16,7%) municípios da Amazônia. No ano de 2003, observou-se casos em 20 (21,0%) municípios do Cerrado, em 2 (50,0%) municípios do Pantanal e em 5 (11,9%) municípios da Amazônia. Em 2004 foram atingidos 27 (28,4%) municípios do Cerrado, 2 (50,0%) municípios do Pantanal e 2 (4,8%) municípios da Amazônia. No ano de 2005 ocorreram casos em 26 (27,4%) municípios do Cerrado, em 3 (75,0%) municípios do Pantanal e em 5 (11,9%) municípios da Amazônia. Em 2006, foram afetados pela doença 28 (29,5%) municípios do Cerrado, 2 (50,0%) municípios do Pantanal e 3 (7,1%) municípios da Amazônia.

**Tabela 03 – Quantidade e porcentagem de municípios de cada bioma com casos de raiva bovina distribuídos conforme o ano de ocorrência no estado de Mato Grosso, Brasil - 1996 - 2006.**

Biomias	Cerrado	Pantanal	Amazônia	Total
Total de	95	4	42	141
Municípios				
1996 (%)	15 (15,8%)	3 (75%)	2 (4,8%)	20
1997 (%)	10 (10,5%)	3 (75%)	6 (14,3%)	19
1998 (%)	18 (18,9%)	2 (50%)	2 (4,8%)	22
1999 (%)	12 (12,6%)	3 (75%)	3 (7,1%)	18
2000 (%)	21 (22,1%)	4 (100%)	4 (9,5%)	29
2001 (%)	15 (15,8%)	2 (50%)	7 (16,7%)	24
2002 (%)	19 (23,1%)	3 (75%)	7 (16,7%)	29
2003 (%)	20 (21,0%)	2 (50%)	5 (11,9%)	27
2004 (%)	27 (28,4%)	2 (50%)	2 (4,8%)	31
2005 (%)	26 (27,4%)	3 (75%)	5 (11,9%)	34
2006 (%)	28 (29,5%)	2 (50%)	3 (7,1%)	33
Total	65 (68,4%)	4 (100%)	23 (54,8%)	92 (65,2%)

#### **4.3 Distribuição de casos de raiva bovina conforme bioma do Estado de Mato Grosso, Brasil, entre os anos de 1996 a 2006.**

Como pode ser visto na tabela 4, no bioma Amazônia (que representa 54% da área do estado), houve 75 (10,1%) casos positivos de raiva; no Cerrado foram 517 (69,4%) casos, e no Pantanal, 153 (20,5%). De acordo com esses dados, o Cerrado é o bioma que oferece as melhores condições de disseminação da doença, possivelmente pelos fatores ambientais e climáticos que possibilitam meios propícios para manutenção dos morcegos, dentre eles o hematófago. No Brasil o Cerrado ocupa uma área de 1,4 milhões de km<sup>2</sup>, sendo que, em Mato Grosso a área ocupada pelo Cerrado é de aproximadamente 300 mil km<sup>2</sup>, cerca de 34% do território estadual (FERREIRA, 2001).

**Tabela 04 – Quantidade e porcentagem de casos de raiva bovina distribuídos conforme bioma - Mato Grosso, Brasil - 1996 - 2006.**

Ano	Cerrado	Pantanal	Amazônia	Total
1996	23 (65,7%)	8 (22,9 %)	4 (11,4%)	35 (4,7%)
1997	19 (44,8%)	10 (26,3%)	11 (29%)	40 (5,4%)
1998	41 (63,1%)	18 (27,7%)	6 (9,2%)	65 (8,7%)
1999	40 (62,5%)	20 (31,2%)	4 (6,2%)	64 (8,6%)
2000	43 (75,4%)	9 (15,8%)	5 (8,8%)	57 (7,6%)
2001	31 (53,4%)	16 (27,6%)	11 (19,0%)	58 (7,8%)
2002	48 (63,2%)	19 (25,0%)	9 (11,9%)	76 (10,2%)
2003	41 (67,2%)	14 (23,0%)	6 (9,9%)	61 (8,2%)
2004	63 (81,9%)	11 (14,2%)	3 (3,9%)	77 (10,3%)
2005	59 (71,0%)	13 (15,7%)	11 (13,2%)	83 (11,1%)
2006	109 (84,4%)	15 (11,7%)	5 (3,9%)	129 (17,4%)
Total	517 (69,4%)	153 (20,5%)	75 (10,1%)	745 (100,0%)

O Cerrado compreende um mosaico de tipos vegetacionais, incluindo as formações abertas do Brasil Central (campo-limpo, campo-sujo, campo cerrado e campo rupestre) e as formações florestais características (vereda, mata de galeria, cerradão e mata mesofítica). No bioma Cerrado vivem aproximadamente 80 espécies diferentes de quirópteros (SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, 2000).

O homem vem exercendo grande pressão sobre este bioma, não havendo estimativas precisas de áreas convertidas à produção agropecuária. No entanto, é certo que as taxas de destruição aumentaram consideravelmente, principalmente através da expansão da área cultivada de soja e o crescimento do rebanho bovino (FERREIRA, 2001).

O Pantanal é uma das maiores planícies inundáveis do mundo e abriga uma grande concentração de vida silvestre. Possui aproximadamente 160.000 km<sup>2</sup>, dos quais quase 90% pertencem ao Brasil, nos Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. A localização geográfica central da planície pantaneira favorece o contato com outros biomas brasileiros, como a Amazônia e o Cerrado, além do Chaco Boliviano, proporcionando uma exuberante diversidade de espécies de animais e



plantas. Aproximadamente 83% das planícies do Pantanal estão em excelentes condições de conservação. As inundações anuais e a baixa fertilidade dos solos são as principais razões pelas quais o Pantanal ainda está praticamente intacto. Essas características naturais impediram a ocupação humana, o avanço da fronteira agrícola e o uso intenso dos solos. Mesmo estando bastante conservado, o Pantanal sofre constantes ameaças. A maior parte delas está relacionada com o desmatamento do Cerrado, pois os principais rios do Pantanal nascem nos planaltos e nas chapadas desse domínio vizinho, que sofre profundos problemas ambientais. No Pantanal, existem pelo menos 3.500 espécies de plantas, 463 de aves, 124 de mamíferos, 177 de répteis, 41 de anfíbios e 325 espécies de peixes de água doce. Esses números refletem apenas uma visão geral da biodiversidade ainda pouco estudada na região (CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL DO BRASIL, 2008). Por isso, não pode ser descartada a possibilidade desta biodiversidade tanto do Pantanal quanto da Amazônia albergar espécies diferentes das conhecidas até o momento como reservatório para manutenção do vírus da raiva.

A Amazônia é o ecossistema de maior diversidade biológica do mundo, representando a mais extensa floresta tropical existente. É também o maior bioma brasileiro, sendo que de seus aproximadamente 5,5 milhões de km<sup>2</sup> de extensão, 3,3 milhões de km<sup>2</sup> estão em território brasileiro, dos quais pelo menos 550 mil km<sup>2</sup> estão dentro do Estado de Mato Grosso. Juntamente com o Cerrado, é o bioma que apresenta as maiores taxas de conversão de florestas em uso agropecuário. Outras pressões significativas sobre os ecossistemas amazônicos estão representadas pela construção de barragens para produção de energia elétrica e pela indústria de extração madeireira (FERREIRA, 2001).

No bioma Amazônia existe aproximadamente 117 espécies quiropteranas, porém a maioria possui biologia completamente desconhecida (SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, 2000). A Amazônia corresponde a 54% do território estadual, porém somente 10% do número de casos de raiva durante o período estudado, ocorreram neste bioma. Há possibilidade também de que a ocorrência de menor número de casos de raiva registrados nessa região se deva à sua localização geográfica mais distante dos grandes centros, pela dificuldade de acesso devido às rodovias mal conservadas que em períodos de chuva se tornam intransitáveis e também ao pequeno contingente de profissionais médicos veterinários nos municípios localizados nesse bioma.

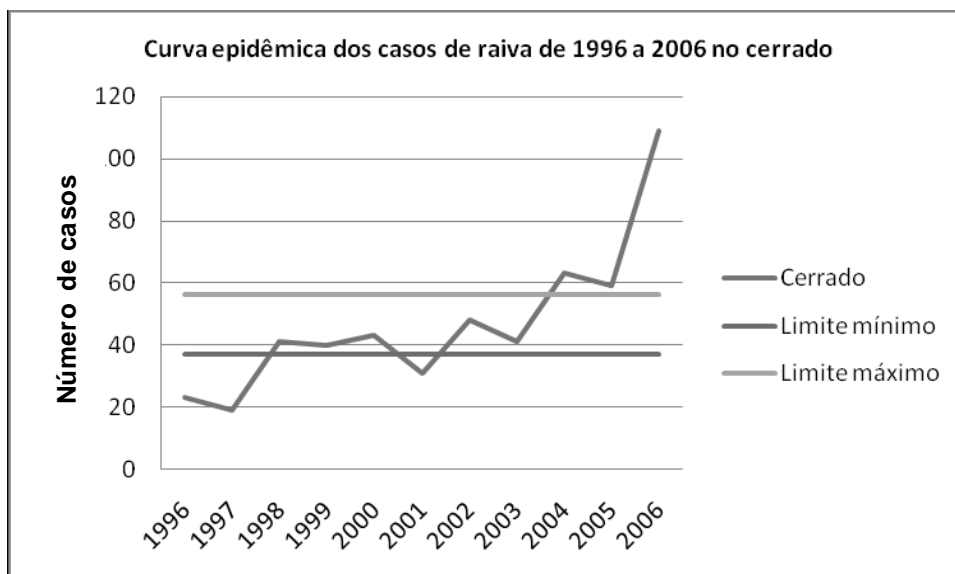
Segundo THRUSFIELD (2004), os fatores que afetam a forma da curva epidêmica dependem do período de incubação da doença, da infectividade do agente, da proporção de animais suscetíveis na população e da distância entre os animais (densidade populacional).

Os dados dos biomas do Estado de Mato Grosso com a série histórica dos 11 anos, foram estudados para obtenção de valores mínimos e máximos para classificá-los em condição de enzootia ou epizootia (Tabela 5).

**Tabela 5 – Média, valores mínimos e máximos para a ocorrência de casos de raiva nos três ecossistemas - Mato Grosso, Brasil - 1996 - 2006.**

Biomias	X	$\sigma$	$1,96x\sigma$	Mínimo $X-1,96x\sigma$	Máximo $X+1,96x\sigma$
Cerrado	46,81	4,83	9,47	37,34	56,28
Amazônia	6,81	1,71	3,36	3,45	10,17
Pantanal	13,90	1,97	3,87	10,03	17,77

No bioma Cerrado no período de 1996 a 2006, o número de casos de raiva foi crescente, onde a situação de enzootia nos anos de 1996 a 2003 passa para epizootia nos anos de 2004 a 2006 (Figura 2).



**Figura 2 - Curva epidêmica dos casos de raiva bovina de 1996 a 2006 no bioma cerrado.**

No bioma Pantanal (Figura 3), neste mesmo período, o número de casos manteve-se na maior parte do tempo como enzootia, tendo picos de epizootia nos anos de 1998 a 1999 e no ano de 2002.

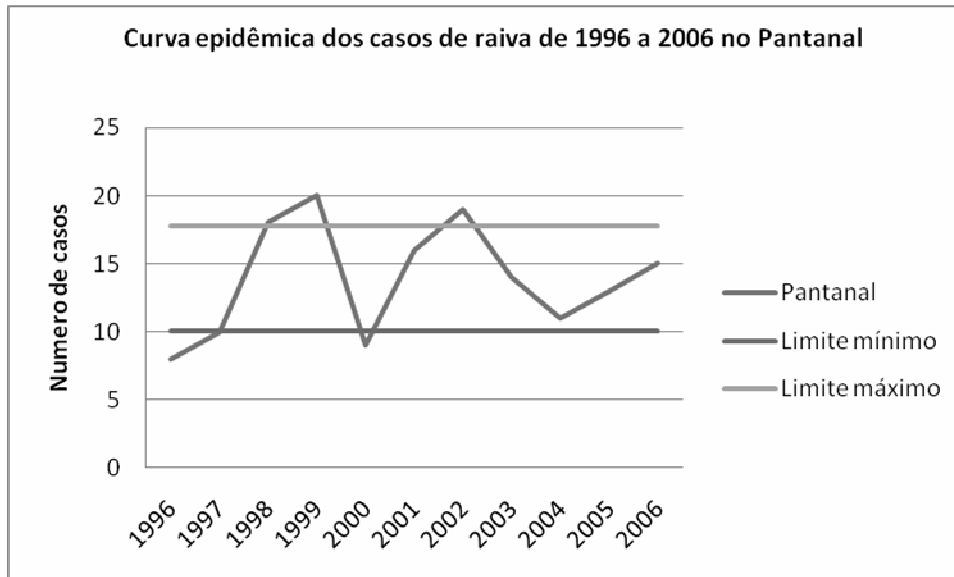


Figura 3 - Curva epidêmica dos casos de raiva bovina de 1996 a 2006 no bioma Pantanal.

No bioma Amazônia (Figura 4), houve três momentos de epizootia, durante os anos de 1997, 2001 e 2005. Nos demais anos a situação da raiva foi de enzootia.

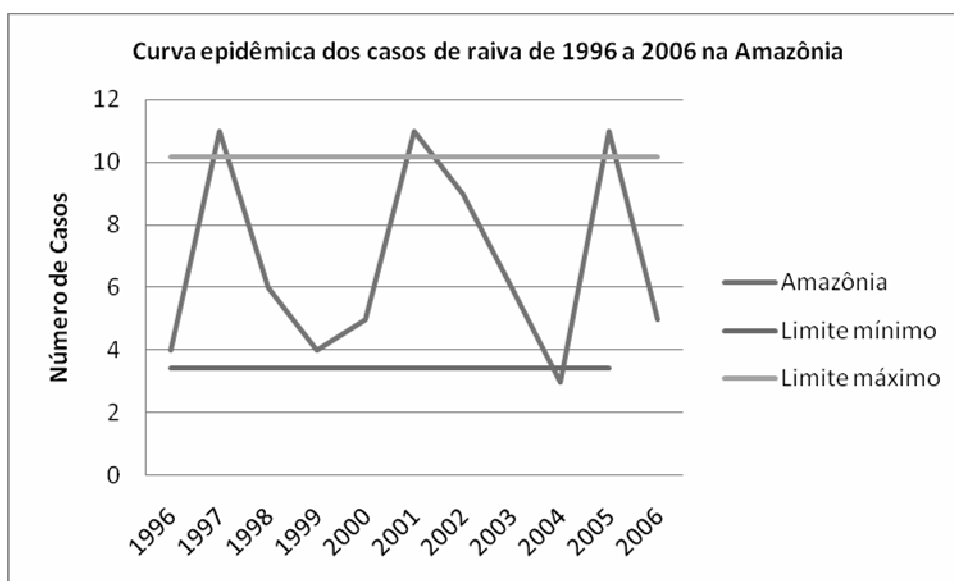


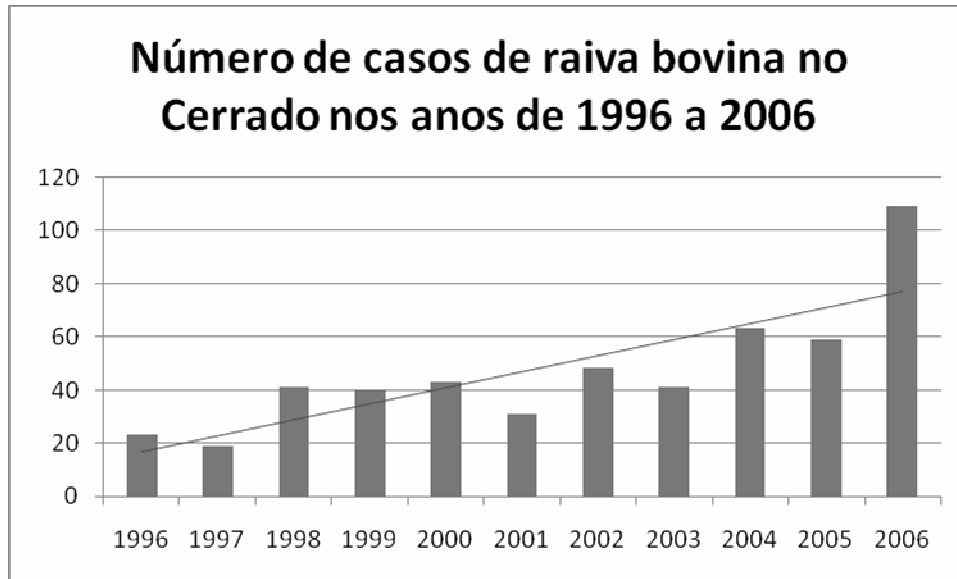
Figura 4 - Curva epidêmica dos casos de raiva bovina de 1996 a 2006 no bioma Amazônia

#### **4.4 Distribuição do efetivo bovino do Estado de Mato Grosso nos municípios caracterizados pelos três biomas**

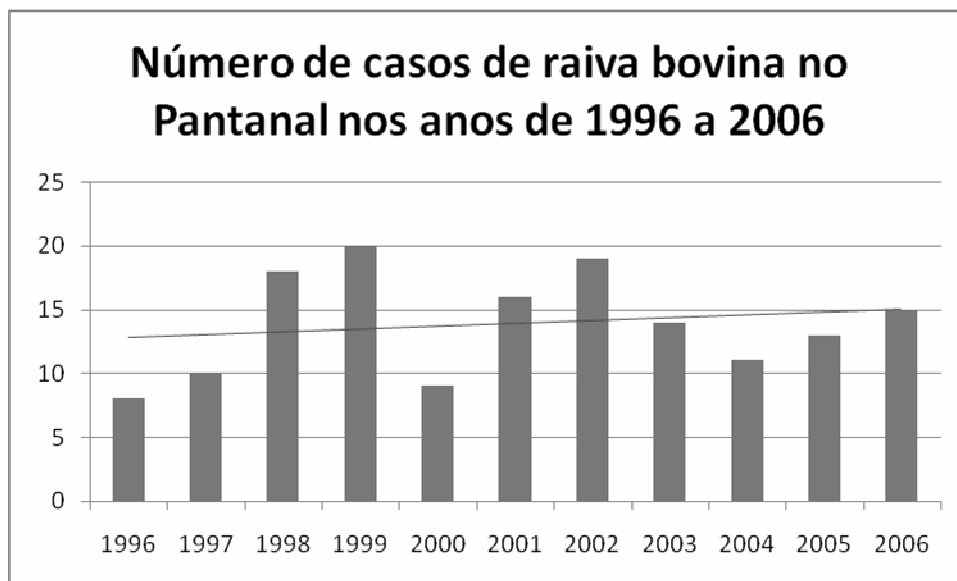
O Estado de Mato Grosso possui o maior rebanho bovino do país, com 26.208.468 animais (INDEA-MT, 2007). Considerando-se o levantamento realizado pelo INDEA/MT elencando os dez municípios com maior rebanho bovino, destaca-se em primeiro lugar o município de Juara na Amazônia, com 853.847 animais; em segundo lugar Vila Bela da Santíssima Trindade, no Cerrado com 839.603 animais; em terceiro lugar Cáceres, no Pantanal, com 835.206 animais; em quarto e quinto lugar, respectivamente, Alta Floresta e Vila Rica na Amazônia, com o efetivo de 748.681 e 647.950 bovinos; Paranatinga, Porto Esperidião, Barra do Garças e Água Boa, representantes do Cerrado, em sexto, sétimo, oitavo e nono lugar respectivamente, com 473.990, 465.801, 421.401 e 418.134 bovinos; e por fim, em décimo lugar, Santo Antonio de Leverger, no Pantanal, com 410.096 animais. Proporcionalmente no Cerrado concentra-se 14.705.695 (56,1%) do rebanho bovino; na Amazônia, 9.621.830 (36,7%) e no Pantanal, 1.880.943 (7,2%) (Tabela 6).

A tentativa de confrontar o número de bovinos com o número de casos de raiva e sua distribuição por municípios de cada ecossistema permite tão somente constatar no período analisado, que existe uma proporcionalidade direta entre os biomas com um efetivo maior de bovinos, com um maior percentual de ocorrência de casos de raiva. Este fato pode ser comprovado através dos gráficos 1, 2 e 3, nos quais estão ilustrados os números de casos de raiva no período de 1996-2006 nos três biomas, sendo que no Cerrado (Gráfico 1), o número de casos foi crescente no período estudado e nos biomas Pantanal (Gráfico 2) e Amazônia (Gráfico 3) foram praticamente constantes.

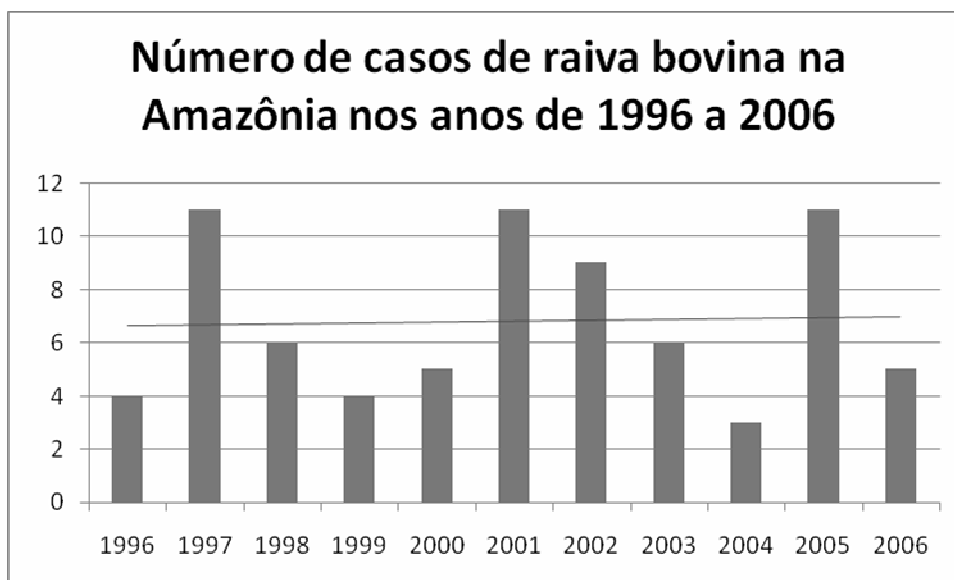
Analisando a tabela 6, verifica-se que dos 95 municípios do Cerrado, 65 (68,4%) notificaram casos de raiva. Apenas 23 (54,8%) dos 42 municípios da Amazônia e no Pantanal, todos os municípios (100,0%) notificaram casos de raiva, retratando novo perfil do efetivo bovino. Dos 14.705.695 bovinos do Cerrado, 10.849.787 estão representando os municípios que notificaram casos de raiva, na Amazônia dos 9.621.830 bovinos, 6.652.690 (69,1%) estão representando os municípios que notificaram casos de raiva e no Pantanal, 1.880.943 (100,0%) fazem parte dos municípios que notificaram casos de raiva.



**Gráfico 1 – Número de casos de raiva bovina no bioma Cerrado, do Estado de MT entre 1996-2006.**



**Gráfico 2 – Número de casos de raiva bovina no bioma Pantanal, do Estado de MT, entre 1996-2006.**



**Gráfico 3 – Número de casos de raiva bovina no bioma Amazônia, do Estado de MT, entre 1996-2006.**

**Tabela 6 – Distribuição do efetivo bovino nos municípios caracterizados pelos três biomas, conforme a ocorrência da raiva bovina - Mato Grosso - 1996 - 2006.**

Bioma	Efetivo bovino total	Total de municípios	Efetivo bovino	
			Municípios com casos de raiva	dos municípios com casos de raiva
Cerrado	14.705.695	95	65	10.849.787
Amazônia	9.621.830	42	23	6.652.690
Pantanal	1.880.943	04	04	1.880.943
<b>Total</b>	<b>26.208.468</b>	<b>141</b>	<b>95</b>	<b>19.383.420</b>

O programa de análise estatística utilizado foi o Mini tab 1.4, onde foi realizado o teste ANOVA, teste t Tukey e simples comparação entre o efetivo bovino, o número de casos de raiva e o efetivo bovino dos municípios com casos de raiva no Cerrado, Amazônia e Pantanal através do teste de Tukey, com grau de confiabilidade de 5%. Comparando-se Pantanal e Amazônia, com relação ao efetivo bovino a Amazônia apresentou um efetivo bovino significativamente maior ( $p < 0,05$ ) e número de casos significativamente menor ( $p < 0,05$ ). Já quando comparou-se o

número de casos com o efetivo bovino dos municípios com casos de raiva, não houve significância ( $p > 0,05$ ). Na comparação entre Cerrado e Amazônia, o Cerrado apresentou significativamente ( $p < 0,05$ ) os maiores valores para todas as comparações. Os mesmos resultados foram obtidos quando comparou-se Cerrado e Pantanal.

Estes resultados estatísticos comprovam que o Cerrado, possuindo o maior efetivo bovino, possui também o maior número de casos de raiva e maior efetivo bovino com raiva que as regiões do Pantanal e Amazônia. Portanto, fica comprovado mais uma vez ser a região de Cerrado a área mais propícia à ocorrência de casos de raiva bovina.

#### 4.5 Sazonalidade de casos de raiva dos bovinos nos três biomas do Estado de Mato Grosso, no período de 1996 a 2006.

Analisando a sazonalidade da raiva nos 11 anos de estudo no Estado de Mato Grosso, os dados da tabela 8 e gráfico 4 e 5 revelam uma média de aproximadamente 62 casos referente a cada mês no período de 1996 a 2006. Houve variação abaixo da média, de 43 a 61 casos, nos meses de abril, maio, setembro e outubro e acima da média, 63 em janeiro, março e dezembro, 64 em junho, 66 em fevereiro, 67 em novembro, 71 em agosto, alcançando 73 casos no mês de julho.

**Tabela 7 – Número de casos de raiva bovina conforme mês de ocorrência, nos diferentes biomas - Mato Grosso - 1996 - 2006.**

Meses \ Bioma	Cerrado	Amazônia	Pantanal	Total
Janeiro	47	2	13	62
Fevereiro	45	6	15	66
Março	43	10	10	63
Abril	28	5	21	54
Maio	35	7	19	61
Junho	40	6	18	64
Julho	48	15	10	73
Agosto	53	3	15	71
Setembro	43	5	8	56
Outubro	34	3	5	42
Novembro	53	6	10	69
Dezembro	48	7	9	64
Total	517	75	153	745

**Tabela 8 – Casos de raiva bovina distribuídos conforme mês de ocorrência - Mato Grosso - 1996 - 2006.**

Ano	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	Total
Mês												
Jan	3	3	7	5	3	4	11	6	8	7	5	62
Fev	3	6	7	4	2	6	6	9	5	10	8	66
Mar	0	4	4	8	6	8	3	2	11	7	10	63
Abr	2	8	3	5	3	2	3	7	3	8	10	54
Mai	9	3	4	6	1	2	7	7	3	5	14	61
Jun	4	5	9	5	1	1	3	3	11	6	16	64
Jul	2	4	10	4	7	3	10	6	12	9	6	73
Ago	9	2	7	8	0	2	5	7	9	6	16	71
Set	0	4	4	2	3	5	9	3	4	10	12	56
Out	0	0	2	7	7	4	4	3	4	3	8	42
Nov	1	1	3	2	22	9	9	4	4	4	10	69
Dez	2	0	5	8	2	12	6	4	3	8	14	64
Total	35	40	65	64	57	58	76	61	77	83	129	745

No contexto geral, observou-se um aumento nos casos de raiva no período de seca, entre os meses de julho e agosto. Resultados semelhantes às ocorrências dos Estados de Minas Gerais e São Paulo, onde a maior incidência concentram-se nos meses de abril a agosto (SILVA et al., 2001) e no Nordeste do Brasil, os meses de maior ocorrência vão de março a agosto (LIMA et al., 2005). No Mato Grosso do Sul, a época de maior incidência é no outono (abril a junho) (MORI et al., 2004).

TADDEI et al. (1996), estudando a influência climática nos casos de raiva no Estado de São Paulo de 1981 a 1987, puderam observar uma maior ocorrência de raiva entre os meses de abril e junho.

De acordo com BRASIL (2005), a restrição alimentar dos morcegos, provocada pelas chuvas torrenciais, parece interferir na fisiologia da termorregulação, pois os pêlos do corpo molhados pela chuva podem prejudicar sua regulação térmica. Além disso, as três espécies de morcegos hematófagos, em condições normais, não são boas termorreguladoras. As gotas de chuva podem ainda prejudicar a ecolocalização, dificultando a percepção dos morcegos em relação ao seu ambiente. Estas observações podem explicar os resultados



encontrados no presente trabalho, uma vez que o maior número de casos de raiva ocorreu durante o período de seca.

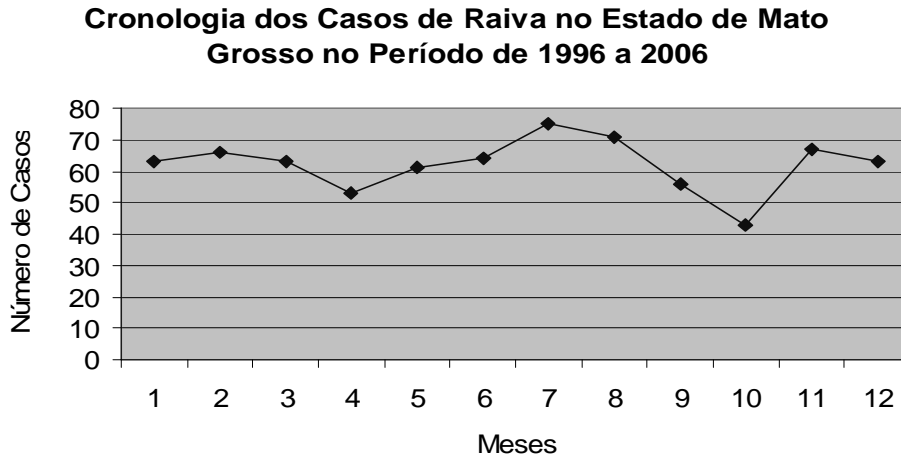


Gráfico 4– Cronologia de casos de raiva bovina em Mato Grosso no período de 1996 a 2006.

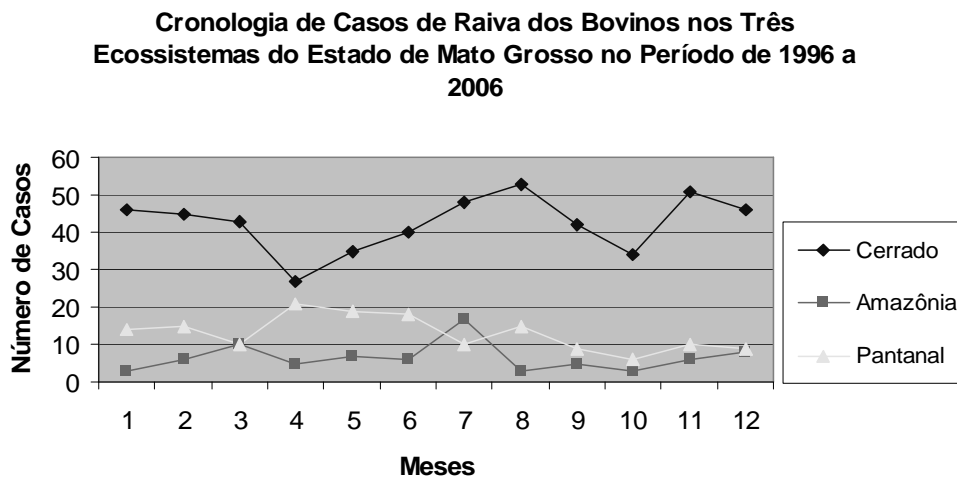


Gráfico 5 – Cronologia dos casos de raiva bovina nos três ecossistemas de Mato Grosso no período de 1996 a 2006

#### 4.6 Análise filogenética e distribuição geográfica

Os resultados da análise filogenética entre os 203 nucleotídeos da nucleoproteína N das 53 amostras apresentaram uma homologia de pelo menos 83.7%, caracterizando todas como pertencentes ao genótipo 1 do gênero *Lyssavirus*. Estas amostras também foram identificadas como VR relacionado a morcegos hematófagos. Como o VR possui um grande número de linhagens filogenéticas, o seqüenciamento e análise filogenética das amostras de encéfalo bovino permitiram fazer a separação em sete subgrupos caracterizados pela homologia dos nucleotídeos (Figura 5).

A localização geográfica dos isolamentos do VR conforme o subgrupo está demonstrada na Figura 6. Foram classificadas no subgrupo A cinco amostras, provenientes dos municípios de Barra do Bugres, Cuiabá, Mirassol D'oeste, Matupá e Itaúba. No subgrupo B é ficou somente uma amostra, oriunda do município de Itiquira. As três amostras pertencentes ao subgrupo C são provenientes dos municípios de Primavera do Leste, Paranatinga e Cuiabá. Do subgrupo D, quatro amostras originárias do município de Santo Antonio de Leverger e duas do município de Nossa Senhora do Livramento. Do subgrupo E foram classificadas duas amostras coletadas no município de Jangada. Somente uma amostra pertenceu ao subgrupo F, proveniente do município de Várzea Grande. E, por fim, o subgrupo G, representado por dez amostras originárias do município Mirassol D'oeste, oito amostras do município de Cáceres, cinco amostras do município de Barra do Bugres, duas do município de Várzea Grande, e uma amostra de cada um dos seguintes municípios: Lambari D'oeste, Diamantino, Alto Paraguai, Alto Araguaia, Alta Floresta e Colíder, totalizando o maior subgrupo, com 31 amostras.

Os municípios de Barra do Bugres, Cuiabá e Mirassol D'oeste, onde foram encontradas três das cinco amostras do subgrupo A estão localizados em regiões de baixas altitudes (entre 129 e 262 m). Com relação ao relevo, Barra do Bugres é formado pela Baixada do Rio Paraguai, sendo cortado por algumas pequenas serras. Cuiabá encontra-se no Planalto Guimarães e na Depressão do rio Paraguai, assim como Mirassol D'oeste. Já Matupá e Itaúba, onde foram encontradas as outras duas amostras do subgrupo A, estão localizados na região da Floresta Amazônica, a altitudes entre 300 m e 400 m, na região do Planalto Residual do

Norte de Mato Grosso, sendo ainda Itaúba delimitada pelas serras do Cachimbo e dos Caiabés. Itiquira, único município com amostra classificada no subgrupo B, localiza-se na região do Planalto Taquari-Itiquira, a 520m de altitude. Os municípios de Primavera do Leste e Paranatinga, onde foram coletadas duas das três amostras classificadas no subgrupo C, estão localizadas em regiões mais elevadas (600m a 636 m) sendo que Primavera encontra-se na região do Planalto dos Guimarães e Paranatinga na Depressão Interplanáltica Paranatinga.

A terceira amostra foi originária do município de Cuiabá, já caracterizado anteriormente. Os municípios de Santo Antonio de Leverger e Nossa Senhora do Livramento, onde estavam as variantes pertencentes ao subgrupo D, são próximos e localizam-se na Depressão do Rio Paraguai, com baixas altitudes, variando entre 140 m a 171 m. O subgrupo E faz parte de uma nova variante isolada a partir da análise de 203 pares de base do gene N. Este último com duas amostras originárias do município de Jangada, que também está localizado na Depressão do Rio Paraguai e com altitude de 200m. O subgrupo F, outra nova variante, foi representado por uma única amostra encontrada no município de Várzea Grande, também situado na Depressão do Rio Paraguai, com altitude de 185 m. E finalmente, o subgrupo G, caracterizado em 31 amostras, em sua maioria no sul do Estado, e duas amostras provenientes na região norte. Essas amostras são oriundas do município de Mirassol D'oeste (10 amostras), que juntamente com os municípios vizinhos Barra do Bugres ( 5 amostras), Porto Estrela (2 amostras), e Lambari D'oeste (1 amostra) estão localizados na região da Baixada do Rio Paraguai, com altitude média de 130 m, tendo ainda Barra do Bugres e Porto Estrela algumas serras em seu relevo. Outros dois municípios com amostras do subgrupo G são Diamantino (1 amostra) e Alto Paraguai (1 amostra), com altitudes de 225 m e 252 m, respectivamente. Alto Paraguai está localizado no centro de uma Província Serrana e pertence à Bacia do Prata. Já Diamantino encontra-se na região do Planalto dos Parecis. Várzea Grande, município já citado anteriormente, teve uma amostra, Alto Araguaia (1amostra), município localizado mais a sudeste do estado, na região do Planalto Taquari-Itiquira, com altitude de 662 m. Mais ao sul, na região do Pantanal Mato-grossense, à altitude de 118 m, encontra-se o município de Cáceres com 7 amostras classificadas também no subgrupo G. Ao Norte, encontra-

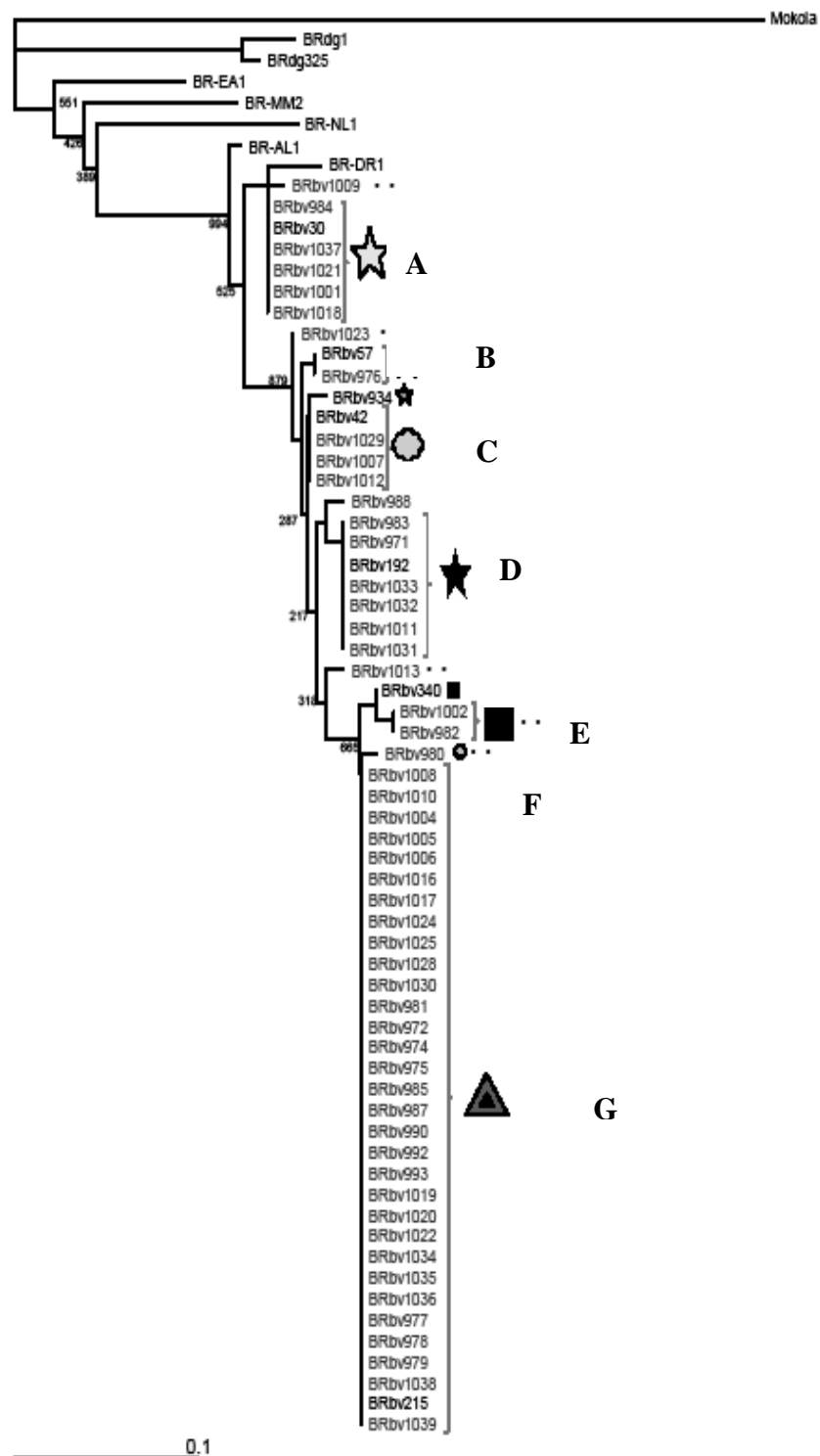


Figura 5: Árvore filogenética baseada na seqüência parcial do gene N. O vírus Mokola foi usado como grupo externo. As amostras de VR isoladas neste trabalho estão indicadas em vermelho. As demais amostras são de artigos anteriores (KOBAYASHI et al. 2005; 2006).  
 . . Novos grupos distinguidos a partir de 203 pb do gene N.

se os municípios de Alta Floresta (1 amostra) e Colíder (1 amostra) no subgrupo G. Ambos os municípios localizam-se em região de Planalto, com altitudes de aproximadamente 300 m. Próxima à Colíder encontra-se a Serra do Cachimbo. Outras três amostras não se encaixaram em nenhum dos subgrupos sendo portanto, novos grupos distinguidos a partir deste estudo.

Todo este estudo com as análises filogenéticas do gene N demonstrou que as amostras isoladas de bovinos estavam geneticamente relacionadas ao grupo do VR de morcegos vampiros, fato que coincide com as pesquisas de FAVORETTO et al. (2000), que também estudaram amostras brasileiras usando anticorpos monoclonais e concluíram que 100% das amostras isoladas de bovinos pertenciam a variante proveniente do *Desmodus rotundus*.

O mais interessante achado no presente trabalho é que o padrão de distribuição das variantes difere conforme a origem geográfica, permitindo supor que as características epidemiológicas das variantes do VR estejam associadas à ecologia das populações de morcegos hematófagos. As colônias de *Desmodus rotundus* geralmente escolhem as rotas mais curtas entre o abrigo e sua presa, mas se preciso for, viajam muitos quilômetros para encontrar a presa (ARELLANO-SOTA, 1988). Apesar de formarem colônias relativamente estáveis, os morcegos hematófagos costumam visitar regularmente abrigos vizinhos, o que de certa forma promove um intercâmbio entre a maioria das colônias de uma determinada área (LORD, 1980). Devido a este aspecto da ecologia do *Desmodus rotundus*, a disseminação da raiva nesta espécie é mantida através do contato entre indivíduos infectados de uma colônia e indivíduos suscetíveis de outra (MCCOLL et al., 2000; LORD, 1980). Segundo FORNES et al., (1974), os surtos de raiva em morcegos hematófagos costumam movimentar-se lentamente, a uma velocidade de aproximadamente 40 km por ano.

A distribuição geográfica das variantes encontradas neste estudo tendem a serem separadas por regiões de montanhas, fato também observado por KOBAYASHI et al., (2006) e VELASCO -VILLA et al.,(2006).

De acordo com FERREIRA (2001), o Estado de Mato Grosso possui poucas áreas de elevadas altitudes, sendo predominantes as regiões de planícies e depressões, o que facilita a disseminação do vírus pelas colônias de morcegos hematófagos. Segundo ROMIJIN et al., (2003), com estas condições os morcegos podem voar longas distâncias em busca de comida em extensas regiões,

disseminando o vírus em um curto intervalo de tempo. Os subgrupos A e G foram os mais disseminados, sendo suas amostras encontradas tanto na região sul como na região norte do estado, mesmo existindo diversos rios entre as duas regiões e de bacias hidrográficas diferentes, mas que não impediram o deslocamento do vírus. Esses achados, sugerem que o VR relacionado a morcegos hematófagos tende a se espalhar por regiões de terras baixas, como já havia sido observado por ROMIJIN et al. (2003).

O subgrupo B, caracterizado somente por uma amostra, foi encontrado na região de planalto a sudeste do Estado, com altitudes mais elevadas (520 m). Este fato pode cogitar a existência desta variante como específica nesta região. As três amostras do subgrupo C foram encontradas também em áreas de planalto mais elevadas (em torno de 600 m), sendo que Cuiabá também possui região de depressão com altitudes mais baixas (165 m). Ademais a disseminação desta variante parece seguir uma rota com sentido do sul para o norte, o que deve coincidir com a migração das colônias de *Desmodus rotundus*. As variantes pertencentes ao subgrupo D foram localizadas na região da Planície do Pantanal Mato-Grossense, região de baixas altitudes e que possui uma população de quirópteros pouco estudada. As amostras do subgrupo E foram encontradas somente no município de Jangada, a 72 km da capital. Trata-se de uma região de baixas altitudes (200 m), porém circundada pela serra das Araras, o que pode restringir esta variante somente nesta região. A variante representante do subgrupo F está localizada em região de baixas altitudes (185 m) e bem próxima aos locais classificados nos subgrupos C, D, E e G, tornando possível a disseminação desta variante nesses municípios vizinhos. As três amostras que não foram enquadradas em nenhum destes subgrupos por se tratarem de novas variantes, assim como as dos subgrupos D e E, estão localizadas na região do Pantanal, no município de Rondonópolis e em Nova Olímpia, a baixas altitudes (em torno de 200 m) sendo que Rondonópolis fica próxima à Serra de São Jerônimo, que assim como o Pantanal, serve de barreira para a disseminação destas variantes.

O presente estudo indica que a raiva bovina é derivada de diversas variantes que não estão regionalmente bem definidas dentro do Estado de Mato Grosso, discordando dos achados de KOBAYASHI et al., (2006), onde em diversos estados do Brasil, estavam regionalmente bem definidas. Estes achados sugerem que a distribuição geográfica da raiva bovina é dependente da população de morcegos

hematófagos, uma vez que são os maiores transmissores da raiva para os bovinos. (ARELLANO-SOTA, 1988). A diversidade genética entre variantes foi atribuída a aspectos relacionados a ecologia dos morcegos e a variações topográficas do habitat. Conseqüentemente, parece que o VR pode estar circulando por populações de morcegos que habitam áreas contínuas, e apesar da distribuição das variantes mudar lentamente, barreiras naturais como montanhas podem ter um papel importante na delimitação de focos de raiva, resultando em variantes regionalmente diferenciadas. KOBAYASHI et al., (2006) observaram variantes do VR relacionadas aos morcegos hematófagos localizadas em regiões montanhosas. Já em outro estudo realizado por KOBAYASHI et al., (2008), muitas variantes foram observadas dispersas independente de potenciais barreiras, movendo-se das regiões de altas para baixas altitudes.

A distribuição das variantes pelos biomas também foi observada neste trabalho, assim como em KOBAYASHI et al., (2008). Grande número de amostras analisadas neste estudo foi encontrado ao longo de rios, e muitas amostras, caracterizadas como sendo da mesma variante, estavam distribuídas ao longo do mesmo rio. Os morcegos hematófagos movimentam-se seguindo a trajetória dos rios, devido a abundância de abrigos e cavernas nas suas margens, onde geralmente são observados surtos de raiva em bovinos (LORD, 1980). Conseqüentemente, a presença de rios e refúgios adequados foram reconhecidos como importantes considerações no delineamento da incidência e disseminação da raiva dos bovinos transmitida por morcegos hematófagos. Grande parte das amostras analisadas neste estudo foi isolada de áreas adjacentes ligadas fluvialmente, estando de acordo com observações epizoóticas da raiva bovina. Esses achados sugerem que a tendência de distribuição de variantes esteja relacionada ao comportamento dos morcegos hematófagos, estando a disseminação do VR relacionada a sua migração.

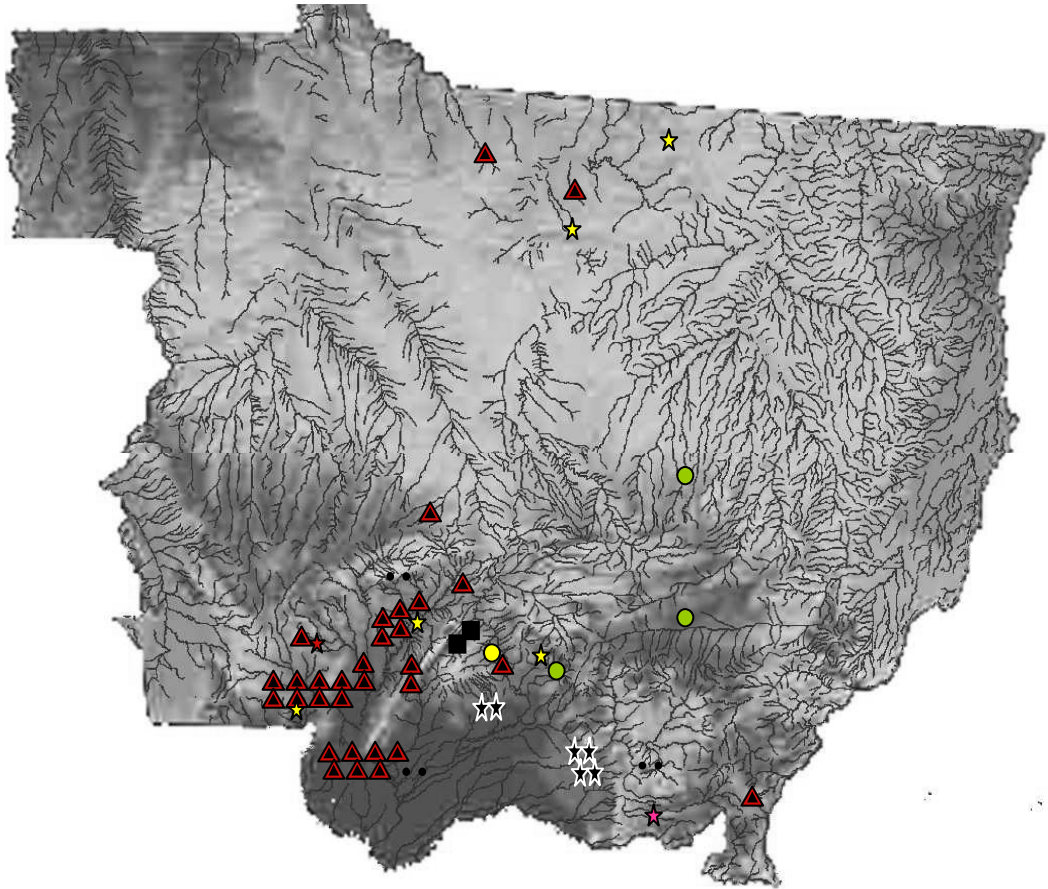


Figura 6: Distribuição geográfica das amostras isoladas de bovinos divididas em 7 subgrupos na análise filogenética. Os símbolos correspondem à figura 5. Os rios estão representados pelas linhas azuis. O mapa foi obtido através do site <http://www.relevobr.cnpm.embrapa.br/>.



A existência de numerosas espécies, distribuídas amplamente no território brasileiro, torna a história natural da raiva em morcegos uma questão ainda a ser esclarecida, assim como a manutenção de variantes do vírus da raiva em determinadas espécies de morcegos insetívoros e com a transposição para outras espécies animais (spill-over) (ROMJIN, 2003). A análise filogenética de 1.335 nucleotídeos do gene N, da posição 89 até 1.423, de 19 amostras brasileiras de VR, comparadas com o vírus Mokola, feita por KOBAYASHI et al. (2005), revelou a existência de variante canina, variante de morcegos insetívoros (com subdivisão em variantes 1, 2 e 3), e variante de morcego hematófago. Considerando o grande número de espécies de morcegos existentes no Brasil, é provável que existam variantes do VR ainda desconhecidas. No mais, a transmissão do VR relacionado a morcegos hematófagos parece ser mais comum em regiões de baixas altitudes e são limitadas pela distribuição de cadeias de montanhas. A circulação do VR relacionada à altitude também foi descrito por KOBAYASHI et al., (2006).

Mesmo com os achados aqui apresentados, estudos epidemiológicos subseqüentes serão necessários para melhor avaliar as características temporais e espaciais da distribuição da raiva transmitida por morcegos hematófagos aos bovinos. Uma vez que as características epidemiológicas da transmissão da raiva bovina por morcegos hematófagos pode estar associada a fatores topográficos e geográficos das áreas onde os bovinos são mantidos, tanto quanto a aspectos da ecologia dos morcegos.

## 5 CONCLUSÃO

Constatou-se aumento no número de casos positivos da enfermidade, sendo que o maior número de casos ocorreu no Cerrado, com uma tendência de aumento anual, diferente do Pantanal e Amazônia, onde o número de casos se manteve praticamente constante. A partir do ano de 2004 o ecossistema Cerrado passou da situação de enzootia para epizootia, ficando, evidente que a situação problema no estado de Mato Grosso se direciona mais para este ecossistema, região onde deve ser priorizada a implantação de medidas sanitárias mais rígidas.

Os resultados da análise filogenética indicaram que no Estado de Mato Grosso, a raiva bovina é causada por diversas variantes do VR que não estão regionalmente bem definidas. Estes achados sugerem que a distribuição das variantes está intimamente relacionada à movimentação dos morcegos hematófagos. Foi também observado que a distribuição do VR relacionado a morcegos hematófagos está relacionada à altitude, e sua transmissão parece ser mais prevalente em regiões de baixas altitudes e são limitadas pela distribuição de serras e montanhas. Estes achados sugerem que as características epidemiológicas da raiva bovina transmitida por morcegos hematófagos podem ser influenciadas por fatores topográficos e geográficos das regiões onde os rebanhos são mantidos, tanto quanto a aspectos relacionados a ecologia dos morcegos. Propomos que estes fatores sejam considerados na elaboração de programas e medidas de prevenção e controle por parte dos órgãos oficiais de defesa sanitária, na tentativa de atenuar a disseminação da raiva bovina transmitida por morcegos hematófagos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N. Epidemiology of paralytic rabies and bat rabies. **Boletín de la Oficina Internacional de Epizootias**, v.67, n.3-4, p. 343-382, 1967.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 2nd ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, p. 502-526, 1986.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 3 ed., Washington D.C, Organización Panamericana de la Salud, v.2, 425 p., 2003.

ALMEIDA, M. F.; MASSAD, E.; MARTORELLI, L. F.; JOPPERT, A. M. Neutralizing antirabies antibodies in urban terrestrial wildlife in Brazil. **J. Wildl. Dis.**, v.37, p.394-398, 2001.

ARAI , Y. T.; KUZMIN, I. V.; KAMEOKA, Y,; BOTBINKIN, A. D. New Lyssavirus genotype from the lesser mouse-eared bat (*Myotis blythi*), Kyrhystan. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 9, n. 3, p. 333-337, 2003.

ARELLANO-SOTTA, C. Vampire bat-transmitted rabies in cattle. **Rev. Infect. Dis.**, v. 10, p. 707-709, 1988.

ARELLANO-SOTA, C. Biology, ecology and control of the vampire bat. **Rev. Infect. Dis.**, v.10 (supl. 4), p. 615-619, 1988.

AVILA PIRES, F.D. De Biologia dos Quirópteros e Raiva dos Herbívoros. Rio de Janeiro, **Casa Valle**, p. 80-88.1965.

BACON, P. J. **Population dynamics of rabies in wildlife**. Orlando, Academic Press, 358p., 1985.

BADRANE, H.; TORDO, N. Host swithing in Lyssavirus history from Chiroptera to the Carnivora orders. **J. Virol.**, v.75, p. 8096-8104, 2001.

BARROS, J. S.; FREITAS, C. E. A. A.; SOUSA, F. S. Raiva em animais silvestres no Estado do Ceará particularmente na raposa (*Dusicyon vetulus*). **Zoonoses revista internacional**, v. 1, n. 1, p. 9-13, 1989.

BELL, J. F.; GONZALEZ, M. A.; DIAZ, A. M.; MOORE, G. J. Nonfatal rabies in dogs: experimental studies and results of a survey. **American Journal of Veterinary Research**, v.32, p.2049-2058, 1971.

BELLOTO, A. J. Raiva transmitida por morcegos nas Américas: impacto na saúde pública e na produção. In: Seminário internacional, morcegos como transmissores da raiva, **Programas e Resumos**, v. 1, p. 24-25, São Paulo, 2001.

BERAN, G. W. **Handbook of Zoonoses**. 2 ed., CRC Press, p. 307-348, 1994.

BORDIGNON, J.; ZANETTI, C. R. Avanços no diagnóstico laboratorial da raiva no Brasil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, v.1, São Paulo. **Programas e Resumos**: De Paula Print Artes Gráficas, 2000.

BOTVINKIN, A. D.;POLESCHUK, E. M.; KUZMIN, I. V.; BORISOVA, T. I.; GAZARYAN, S. V.; YAGER, P.; RUPPRECHT, C. E. novel lyssaviruses isolated from bats in Russia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n.12, p.1623-1625, 2003.

BOURHY, H.; SUREAU, P.; TORDO, N. From rabies to rabies-related viruses. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 23, p. 115-128, 1990.

BOURHY, H.; KISSI, B.; TORDO, N. Molecular diversity of the lyssavirus genus. **Virology**, Orlando, v. 194, p. 70-91, 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa 005. In: **Diário Oficial da República**, 2002.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros. PNCRH. Secretaria de Defesa Agropecuária. DAS. Departamento de Saúde Animal. DSA. **Controle da raiva dos herbívoros**: Manual técnico, Brasília, 104p., 2005.

BRASS, D. A. Rabies in bats. **Natural history and public health implications**. Connecticut: Livia Press, 335p., 1994.

BRETT, A., ARAÚJO, F.A.A., CAETANO-JÚNIOR, J., RODRIGUES, M.G.R., YOSHIZAWA, M., SILVA, M.M.S., HARMANI, N.M.S., MASSUNAGA, P.N.T., BÜRER, S.P., PORTO, V.A.R. & UIEDA, W. Morcegos em áreas urbanas e rurais: manual de manejo e controle. **Fundação Nacional de Saúde**, Brasília, 1996.

CARINI, A. Sobre a epizootia de raiva observada no estado de Santa Catarina – morcegos propagadores da moléstia. **Chácaras e Quintais**, São Paulo, v. 3, n. 6, 1911.

CARLTON W. W. & MCGAVIN M. D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2 ed. ArtMed, Porto Alegre, 672 p. 1998.

CLIQUET, F.; AUBERT, M.; SAGNÉ, L. Development of a fluorescent antibody virus neutralization test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralising antibody. **J. Immunol Methods**, v.212, p. 79-87, 1998.

CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL DO BRASIL. Disponível em: <http://www.conservacao.org>. Acesso em: 25 out. 2008.

CONSTANTINE, D. G. Rabies transmission by non bite route. **Public Health Service Publications**, v. 77, p. 287-289, 1962.

CONSTANTINE, D. G. Bats in relation to the health, welfare, and economy of man. In: WINSATT, W. A. **Biology of bats**. New York: Academic Press, p. 319-449, 1970.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. Raiva. In: **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. MEDSI, Rio de Janeiro, p. 609-628, 1992.

CRESPO, R. F. Biologia de murcielagos hematófagos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, v.1, São Paulo. **Programas e Resumos**: De Paula Print Artes Gráficas, 2000.

DEAN, D. J.; ABELSETH, M. K.; ATANASIU, P. Fluorescent antibody test: In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWISKI, H. **Laboratory Techniques in rabies**. Geneva: World Health Organization, p. 88-95, 1996.

DELPIETRO, H. A. Aspectos econômicos y sanitarios del problema de la rabia paralítica y de la agresión del vampiro. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, v.1, São Paulo. **Programas e Resumos**: De Paula Print Artes Gráficas, 2000.

DELPIETRO, H. A. Situación epidemiológica de la rabia de los herbívoros em la Argentina. In: Seminário internacional, morcegos como transmissores da raiva, **Programas e Resumos**, v. 1, p. 30-32, São Paulo, 2001.

DIAZ, A. M.; PAPO, S.; RODRIGUEZ, A.; SMITH, J. S. Antigenic analysis of rabies-virus isolates from Latin América ans Caribbean. **Zentralblatt Reihe B, Veterinaermedizin**, Hamburg, v. 41, p. 153-160, 1994.

ERMINE, A. D.; LARZUL, P. E.; CECCALDI, J. L.; GUESDON; TSIANG, H. Polimerase chain reaction amplification of rabies virus nucleic acids from total mouse brain RNA. **Mol. Cell. Probes**, v.4, p.189-191, 1990.

ETESSAMI, R.; CONZELMANN, K. K.; MARION, R.; TSIANG, H.; CECCALDI, P. E. Neuronal expression of foreign genes with recombinant rabies virus variants. **Rev. Neurologic** , v. 156, n°3, p. 236-241, 2000.

FAVI, M.; MATTOS, C. A.; YUNG, V.; CHALA, E.; LÓPEZ, L. R.; MATTOS, C. C. First case of human rabies in Chile caused by an insectivorous bat virus variant. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, nº1, p. 79-81, 2002.

FAVORETTO, S.R.; MATTOS, C.C.; CARRIERI, M.L. et al. Caracterização de variantes no Brasil e países vizinhos. In: **Seminário Internacional de Raiva**. São Paulo: Instituto Pasteur, p.59-61, 2000.

FEKADU, M.; BAER, G. M. Recovery from clinical rabies of 2 dogs inoculated with a rabies vírus strain from Ethiopia. **Am. J. Vet. Res.**, v.41, p. 1632-1634.

FENNER, R.; BACKMANN, P. A.; GIBBS, E. P.; MURPHY, F. A.; STUDDERT, M. J.; WHITE, D. O. **Virologia Veterinária**. Acríbia, Zaragoza, p.551-556, 1993.

FERREIRA, J.C.V., **Mato Grosso e seus municípios**, 19 ed. Cuiabá: Secretaria de estado da Educação, 660 p., 2001.

FISHMAN, H. R.; WARD III, F. E. Oral transmission of rabies virus in experimental animals. **American Journal of Epidemiology**, v. 88, n. 1, p. 132-138, 1968.

FLAMAND, A., WIKTOR, T. J.; KOPROWSKI, H. Use of hybridoma monoclonal antibodies in the detection of antigenic differences between rabies and rabies-related virus proteins II. The nucleocapside protein. **Journal of General Virology**, Reading, v. 48, n. 1, p. 105-109, 1980.

FOOKS, A. R. The challenge of new and emerging lyssaviruses. **Expert. Rev. Vaccines**, v.3, n.4, p.333-336, 2004.

FRASER, C.M. BERGERON, J.A., MAYS, A. **The Merck Veterinary Manual**. 7a ed. Merck J. CO, Inc. Rahway, 1832p. 1991.

FORATINI, O.P., O Ambiente. P. 214-243. In: FORANTINI, O.P. **Epidemiologia Geral**. São Paulo. Ed. Artes Médicas, 1980. 259p.

FORNES, A; LORD, R. D.; KUS, M. L., LARGHI, O. P.; FUENZALIDA, E.; LAZARA, L. Control of bovine rabies through vampire bat control. **J. Wildl. Dis.**, v.10, p.310-316, 1974.

FU, Z. F. Rabies and rabies research: past, present and future. **Vaccine**, v. 15, n°1, p. 520-524, 1997.

GERMANO, P. M. L. Advances in rabies research. **Rev, Saúde Pública**, v. 28, p. 86-91, 1994.

GERMANO, P. M. L.; SILVA, E. V.; PRETO, A. A.; CORDEIRO, C. F. Avaliação em camundongos de vacinas anti-rábicas inativadas frente a variantes antigênicas do vírus da raiva. **Arquivo de Biologia Tecnológica**. Curitiba, v. 33, n. 3, p. 551-560, 1990.

GOLDWASSER, R. A.; KISSILING, R. E. Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. **Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine**, Cambridge, v. 98, p. 219-223, 1958.

GOMES, F. P. **Iniciação à Estatística**. São Paulo, 205p., 1967.

CARINI, A. Sur une grande epizootie de rage. **Ann. Inst. Pasteur**, v.25, p.843-846, 1911.

GOSZTONYI, G.; LUDWIG, H. Interactions of viral proteins with neurotransmitter receptors may protect or destroy neurons. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, v. 253, p. 121-141, 2001.

GOULD, A. R.; HYATT, A. D.; LUNT, R.; KATTENBELT, J. A.; HENGSTBERGE, S.; BLACKSELL, S. D. Characterization of a novel lyssavirus isolated from Pteropid bats in Australia. **Virus Research**, v. 54, p.165-187, 1998.

GREEN, S.L. Equine Rabies. In: SELLON, D.C. **The Veterinary Clinics of North America – Equine Practice**. 1a ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. p. 337-347, 1993.



HAAS, L. Molecular epidemiology of animal virus diseases. **J. Vet. Med.**, série B, v.44, p. 257-272, 1997.

HATTWICK, M. A.; WEIS, T. T.; STECHSCHULTE, C. J.; BAER, G. M.; GREGG, M. B. Recovery from rabies. A case report. **Ann. Intern. Méd.** v. 76, p. 931-942, 1972.

HAUPT, H.; REHAAG, H. Raiva epizoótica nos rebanhos de Santa Catarina transmitida por morcegos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 2, p. 17-47, 1925.

HAYASHI, Y.; MORA, E.; CNANDELIER, E. L.; MONTANO, J. A.; OHI, M. Estudo de proteção cruzada de 24 cepas de vírus rábico isoladas de diferentes espécies animais no Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 27, p. 27-35, 1984.

HEATON, P. R.; JOHNSTON, P.; MC ELHINNEY, L. M.; COWLEY, R.; O'SULLIVAN, E.; WHITBY, J. E. Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies-related viruses. **Journal Clinical Microbiology**, Washington, v. 35, p. 2762-2766, 1997.

HURST, E. W.; PAWAN, J. L. An outbreak of rabies in Trinidad. **Lancet**, Boston, n. 2, p. 622-628, 1931.

ITO, M.; ITOU, T.; SAKAI, T.; SANTOS, M.F.C.; ARAI, Y.T.; TAKASAKI, T.; KURANE, I.; ITP, F.H. Detection of rabies vírus RNA isolated from several species of animals in Brazil by RT-PCR. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokio, v.63, n.12, p.1309-1313, 2001a.

ITO, M., YOHKO, T., ARAI, ITOU, T., SAKAI, T., ITO, F.H., TAKASAKI, T., KURANE, I., Genetic Characterization and geographic distribution of rabies virus isolates in Brazil: identification of two reservoirs, dogs and vampires bats. **Virology**, v.284, p.214-222, 2001b.

ITO, F. H. **Programa Nacional do Controle da Raiva em Herbívoros**: Revisão sobre raiva em herbívoros., 2005. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em 20 de maio de 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA - disponível em: <http://mapas.ibge.gov.br/biomas2/viewer.htm>. Acesso em: 06 dez. 2008.

INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE MATO GROSSO – INDEA/MT. **Efetivo bovino do Estado de Mato Grosso, ano 2007**. Dados não publicados. 2007.

JACKSON, A. Pathogenesis. In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W. H. (Ed.). **Rabies**. San Diego: Academic Press, p. 246-282, 2002.

JEKEL, J. F.; ELMORE, J. G.; KATZ, D. L. **Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva**. Porto Alegre: Artmed. 328 p., 1999.

JONES T.C., HUNT R.D. & KING N.W. **Patologia Veterinária**. 6a ed. Manole, São Paulo. 1415p. 2000.

JUBB, K. V. F.; HUXTABLE, C. R. The nervous system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4 ed. San Diego, Academic, v. 1, p. 267-439, 1993.

KAMOLVARIN, N.; TIRAWATNPONG, T.; RATTANASIWAMOKE, R.; TIRAWATNPONG, S.; PANPANICH, T.; HEMACHUDHA, T. Diagnosis of rabies by polymerase chain reaction with nested primers. **J. Infect. Dis.**, v. 167, p. 207-210, 1993.

KAPLAN, C. Rabies: a worldwide disease. In: BACON, P. J. **Population dynamics of rabies in wildlife**. London, Academic Press, p.1-20, 1985.

KAPLAN, C.; TURNER, G. S.; WARREL, D. A. **Rabies: the facts**. 2<sup>nd</sup>. Ed. Oxford: University Press, 126 p., 1986.

KAPLAN, M. M.; KOPROWSKY, H. Rabies. **Scientific America**, v.242, n. 1, p. 104-113, 1980.

KAPLAN, M. M.; KOPROWSKY, H. **Laboratory techniques in rabies**, Geneva, World Health Organization, p. 28-51, 1996.

KING, A. A.; TURNER, G. S. Rabies: a review. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 108, n. 1, p. 1-39, 1993.

KOBAYASHI, Y.; SATO, G.; SHOJI, Y.; SATO, T.; ITOU, T.; CUNHA, E.M.; SAMARA, S.I.; CARVALHO, A.A.; NOCITI, D.P.; ITO, F.H.; SAKAI, T. **J. Vet. Med. Sci.** , v. 67, p. 647-652, 2005.

KOBAYASHI, Y.; OGAWA, A.; SATO, G.; SATO, T.; ITOU, T.; SAMARA, S.I.; CARVALHO, A.A.; NOCITI, D.P.; ITO, F.H.; SAKAI, T., Geographical Distribution of Vampire Bat-related Cattle Rabies in Brazil, **J. Vet. Med. Sci.**, v. 68, p. 1097-1100, 2006.

KOBAYASHI, Y.; SATO, G.; MOCHIZUKI, N.; HIRANO, S.; ITOU, T.; CARVALHO, A.A.B.; ALBAS, A.; SANTOS, H.P.; ITO, F.H.; SAKAI, T. Molecular and geographic analyses of vampire bat-transmitted cattle rabies in central Brazil. **B M C Veterinary Research**, v.4: 44, 2008.

KOPROWSKI, H. The mouse inoculation test. In: MESLIN F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratories techniques in rabies**. 4<sup>th</sup> ed. Geneva: World Health Organization, p. 80-87, 1996.

KOTAIT, I. Controle da raiva dos herbívoros – vacinação: **Past in Pasteur Informa**, São Paulo, n. 6, p. 3, 2001.

KOTAIT I.; GONÇALVES, C. A.; PERES, N. F. Controle da raiva dos herbívoros. **Instituto Pasteur Manuais**, São Paulo, n. 1, 15p. 1998.

KOTAIT, I.; GONÇALVES, C. A.; PERAS, N. F.; SOUZA, M. C. A. M.; TARQUETA, M. C. **Profilaxia da raiva dos herbívoros**. In:\_\_\_\_\_São Paulo: Instituto Pasteur, 15p.(Manuais, 1), 1998.

KULONEN, K.; BOLDINA, I. Differentiation of two rabies strains in Estonia with reference to recent Finnish isolates. **J. Wildlife Dis.**, v.29, p. 209-213, 1993.

KULONEN, K.; FEKADU, M.; WITFIELD, S.; WARNER, K. An evaluation of immunofluorescence and PCR methods for detection of rabies in archival carnoy-fixed, paraffin-embedded brain tissue. **Journal of Veterinary Medicine**, s.B, v. 46, p. 151-156, 1999.

KUZMIN, I. V.; BOTVINKIN, A. D., KHABILOV, T. K. The lyssavirus was isolated from a whiskered bat in northern Tajikistan. **Plecotus**, v.4, p.75-81, 2001.

KUZMIN, I. V.; ORCIARI, L.A.; ARAI, Y. T.; SMITH, J. S.; HANLON, C. A. Bat lyssaviruses (Aravan and Khujand) from Central Asia: phylogenetics relationships according to N, P and G gene sequences. **Virus Research**, v.97, n.2, p. 65-79, 2003.

LANGOHR, I. M.; IRIGOYEN, L. F.; LEMOS, R. A. A.; BARROS, C. S. L. Aspectos epidemiológicos e clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. **Ciência Rural**, Santa Maria, 33 (1): p. 125-131, 2003.

LEÃO, N. Q. **Doenças infecciosas e parasitárias – enfoque amazônico**. Cejup: UEPA, Instituto Evandro Chagas, Belém, 886p., 1997.

LEWIS, P.; FU, Y.; LENTZ, T. L.; Rabies virus entry at the neuromuscular junction in nerve-muscle cocultures. **Muscle and Nerve**, v. 23, nº5, p. 720-730, 2000.

LIMA E. F.; CORREA, F. R.; CASTRO R. S.; GOMES A. A. B.; LIMA F. S. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, p. 250-264, 2005.

LORD, R. D. Control of vampire bats. In: GREENHALL, A. M.; SCHIMIDT, U. (Ed). **Natural history of vampire bats**. Florida: CRC Press, p. 215-226, 1988.

MACHADO, C. G. Reflexões sobre a raiva humana. **Boletim do Instituto Pasteur**, São Paulo, v.1, n.1, p.3-6, 1996.

MATTOS, C. A.; MATTOS, C. C.; RUPPRECHT, C. E. Rhabdoviruses. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **FIELDS Virology**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, p. 1245-1278, 2001.

MAYERN, F. Hematophagous bats in Brazil, their role in rabies transmission, impact on public health, livestock industry and alternatives to an incriminate reduction of bat population. **Journal Veterinary Medicine**, Berlim, v. 50, n. 10, p. 469-472, 2003.

MCCOLL, K. A.; TORDO, N.; SETIÉN, A.A. Bat lyssavirus infections. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v.19, n.1, p.177-196, 2000.

MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**. 4 ed., Geneva, WHO, 476p., 1996.

MORI, A. E., LEMOS, R. A. A.; KADRI A. Raiva. In: R. A. A. (Organizador). **Série Qualificação Rural**, v.2, p. 63-86, 2004.

MORIMOTO, K.; PATEL, M.; CORISDEO, S.; HOOPER, D. C.; FU, Z.F.; RUPPRECHT, C. E.; KOPROWSKI, H.; DIETZSCHOLD, B. Characterization of a unique variant of bats rabies virus responsible for newly emerging human cases in North America. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.93, p. 5653-5658, 1996.

MURPHY, F. A. The pathogenesis and pathology of rabies virus infection. **Ann. Virol. Instituto Pasteur**, v. 136, p. 373-386, 1985.

NADIN-DAVIS, S. A. polymerase chain reaction protocols for rabies virus discrimination. **Journal of Virological Methods**, v.75, p.1-8, 1998.

NADIN-DAVIS, S. A.; HUANG, W.; ARMSTRONG, J. et al. Antigenic and genetic divergence of rabies viruses from bat species indigenous to Canada. **Virus Res.**, v.74, p. 139-156, 2001.

NATIONAL CENTER FOR INFECTIONS DISEASES (CDC), Rabies (2005). Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/rabies/references/referenc.htm>. Acessado em: 31 de maio de 2007.

NILSSON, M. R. Revisão do conceito de que raiva é sempre fatal. **Bol. Of. Sanit. Panam.**, v.68, p.486-494, 1970.

NOCITI, D. L. P. **Caracterização epidemiológica, genética, molecular e da patogenicidade do vírus da raiva de bovinos, nos diferentes ecossistemas do estado de Mato Grosso, Brasil**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, 2005.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL – OIE. **Terrestrial animal health code:** Rabies, 2004. Disponível em: [http://oie.int/eng/normes/mcode/en\\_chapitre\\_2.2.5.thm#rubrique\\_rage](http://oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_2.2.5.thm#rubrique_rage). Acesso em: 19 de maio de 2007.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. OMS. **Comité de expertos de la OMS sobre rabia**. Ginebra, 88p. (Informes Técnicos, 824), 1992.

ORGANIZACIÓN PAN-AMERICANA DE LA SALUD. OPAS. **Boletín: Vigilancia epidemiológica de la rabia em las Américas**. Rio de Janeiro, v. 33 p.1-40, 2001.

ORGANIZACIÓN PAN-AMERICANA DE LA SALUD. OPAS. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**: Clamidiosis, rickettsiosis y virosis. 3 ed., V. 2, 18p., 2003.

PANAFTOSA - CENTRO PAN-AMERICANO DE FEBRE AFTOSA – OPS/OMS. Zoonoses: Raiva, Disponível em: <http://www.panaftosa.org.br/>. Acessado em: 28 de maio de 2007.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Emerging and reemerging infectious diseases, region of the Americas weekly updates: follow up on outbreak of bat-transmitted human rabies in Pará state, Brazil**; electronic information sources on the occurrence and distribution of communicable diseases in the countries of the Americas. V.2, 2004b.

PORRAS, C.; BARBOZA, J. J.; FUENZALIDA, E.; ADAROS, H. L.; OVIEDO, A. M.; FURST, J. Recovery from rabies in man. **Ann. Intern. Med.**, v.85, p. 44-48, 1976.

POUNDER, P. J. Rabies, lyssaviruses and bats. **Scott. Med. J.**, v.48, n.4, p.99-101, 2003.

RIET-CORREA F. SCHILD A.L. & FERNANDES C.G. Enfermidades do sistema nervoso dos ruminantes no sul do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural** 28: P.341-348, 1998.

ROMIJIN, P.C., van der HEIDE, R.; CATTANEO, C.A.; SILVA, R.C. van der POEL, W.H., Study of lyssaviruses of bat origin as a source of rabies for other animal species in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** V.69, p. 81-86, 2003.

RONDON, E. S.; BASTOS, P. V.; SILVA D. A.; PICCININI, R. S.; Estudo comparativo da sintomatologia clínica de bovinos suspeitos de raiva. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, V. 17, n.6, p. 253-256, 1995.

RUPPRECHT, C. E.; SMITH, J. S.; FEKADU, M.; CHILDS, J. E. The ascension of wildlife rabies: a cause for public health concern or intervention? **Emerging infectious diseases**, v. 1, n°4, p. 107-114, 1995.

RUPPRECHT, C. E.; HALON, C. A.; HEMACHUDHA, T. Rabies re-examined. **The Lancet Infections Disease**, v.2, p.327-343, 2002.

RUPPRECHT, C. E.; STOHR, K.; MEREDITH, C. Rabies. In: WILLIAMS, E. S.; BARKER, I. K. **Infections diseases of wild mammals**. Iowa, Iowa State University Press, p.3-36, 2001.

SACRAMENTO, D.; BOURHY H.; TORDO, N. PCR Technique as an alternative method for diagnosis and molecular epidemiology of rabies virus. **Mol. Cell. Probes**, v.5, p.229-240, 1991.

SAITOU, N.; NEI, M. **Mol. Biol. Evol.**, v.4, p.406-425, 1987.

SCHINEIDER, M. C. Estudo de avaliação sobre área de risco para a raiva no Brasil. (**Dissertação de Mestrado** – Escola Nacional de Saúde Pública Fundação Oswaldo Cruz), Rio de Janeiro, 1990.

SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, São Paulo, 64 p., **Programas e Resumos**, 2000.

SILVA, J. A.; MOREIRA E. C., HADDAD J. P. A.; MODENA C. M.; TUBALDINI, M. A. S. Distribuição temporal e espacial da raiva bovina em Minas Gerais, 1976-1997. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 53(3) p. 263-272, 2001.

SILVA, R. A. Evolução histórica da raiva. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, v.1, São Paulo. **Programas e Resumos**: De Paula Print Artes Gráficas, 2000.

SMITH, J. S.; YAGER, P. A.; BAER, G. M. A rapid tissue culture test for determining rabies neutralizing antibody. In: **Laboratory Techniques in Rabies**, KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. (ed.), 3ed., Geneva, WHO, p. 354-357, 1973.



SMITH, J. S., FISHBEIN, D. B.; RUPPRECHT, C. E.; CLARK, K. Unexplained rabies in three immigrants in the United States. **New England J. Med.**, v.324, p. 205-211, 1991.

SMITH, J. S. New aspects of rabies with emphasis on epidemiology, diagnosis, and prevention of the disease in the United States. **Clinical Microbiology Review**, Washington, v. 9, n. 2, p. 166-176, 1996.

SOARES, R. M.; BERNARDI, F.; SAKAMOTO, S. M.; HEINEMANN, M. B.; CORTEZ, A.; ALVES, L. M.; MEYER, A. D.; ITO, F. H.; RICHTZENHAIN, L. J. A heminested polymerase chain reaction for the detection of brazilian rabies isolates from vampire bats and herbivores. **Mem. Oswaldo Cruz**, v.97, p. 109-111, 2002.

STARR, L. E.; SELLERS, T. F.; SUNKES, E. J. Apparent recovery of a dog from rabies. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, 121, 296, 1952.

STEELE, J.H.; FERNANDEZ, P. J. **History of rabies and global aspects**. In: BAER, G. M.. The natural history of rabies. 2<sup>nd</sup> ed., CRC Press Inc., Boca Raton, Fla., p. 1-24, 1991.

SUMMERS, B. A.; CUMMINGS, J. F.; de LA HUNTA, A. **Veterinary neuropathology**. Baltimore, Mosby, 527p., 1995.

SWANEPOEL, R. Rabies. In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, F.R.; TUSTIN, R.C. **Infectious diseases of livestock. With special reference to Southern Africa**. Cape Town: Oxford University, 2 v. V.1, cap.48, p.493-552, 1994.

SWANGO, L.J. Moléstias Virais Caninas. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de Medicina Interna veterinária**. 3a ed. Manole, São Paulo, p.312-325, 1992.

TADDEI, V. A.; GONÇALVES, C. A.; TADEI, W. J.; KOTAIT, I.; ARIETA, C. Distribuição do morcego vampiro *Desmodus rotundus* (Chiroptera Phyl – Lestomidae) no Estado de São Paulo e a raiva dos animais domésticos. Campinas:

CATI, p. 1-107, 1991. (**Publicação Especial Secretaria Agricultura e Abastecimento**).

TADDEI, V. A. Sistemática de quirópteros. **Boletim do Instituto Pasteur**, São Paulo, v.1, p. 3-15, 1996.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia veterinária**. 2. Ed., Roca: São Paulo, 547p. , 2004.

THOULOZE, M.I.; LAFAGE, M.; SCHACHNER, M.; HARTMANN, U.; CRENER, H.; LAFON, M. The neural cell adhesion molecule is a receptor for rabies virus. **J. Virol.**, v.72, p.7181-7190, 1998.

TISIANG, H.; CECCALDI, P. E.; LYCKE, E. Rabies virus infection and transport in human sensory dorsal root ganglia neurons. **J. Gen. Virol.**, v. 72, p. 1191-1194, 1991.

THONGCHAROEN, P., WASI, C., SIRIKAVIN, S. et al. Human-to-human transmission of rabies via corneal transplout – Thailand. **Morbidity Weekly Report**. Centers for Desease Control. V. 30, p. 473-474. 1981.

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

TORDO, N.; POCH, O. ERMINE, A.; GÉRARD, K. Primary structure of leader RNA and nucleoprotein genes of the rabies genome: segmented homology with VSV. **Nucleic Acids Research**, v. 14, n. 6, p.2671-2683, 1986.

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

TORDO, N.; BOURHY, H.; SACRAMENTO, D.; BADRAME, H.; BAHLOU, C.; AGUILAR-SETIEN, A.; LOZA-RUBIO, E.; GAVILAN-SALINAS, A.; BROCHIER, B.;

PASTORET, P. P.; DESMEZIERES, E.; JACOB, Y.; PERRIN, P. Genetic diversity of lyssaviruses: implications in vaccinology. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, 1, São Paulo. **Programas e Resumos**: De Paula Print Artes Gráficas, p. 26-27, 2000.

TORDO, N.; BADRANE, H. A evolução do gênero *Lyssavirus*. **Past In – Pasteur Informa**, v. 9, p. 8-12, 2003.

TUFFERREAU, C.; BENEJEAN, J.; BLONDEL, D.; KLEFFER, B.; FLAMAND, A. Low-affinity nerve-growth factor receptor (P75NTR) can serve as a receptor for rabies virus. **EMBO J.**, v.17, p. 7250-7259, 1998.

UIEDA, W. Biologia e dinâmica populacional de morcegos hematófagos no Brasil. **Anais do II Curso de Atualização em Raiva dos Herbívoros**. v.2, p. 63-87, 1996.

VAN REGENMORTEL, H. V.; BISHOP, D. H. L.; VAN REGENMORTEL, M. H.; FAUQUET, C. M. Virus Taxonomy: **Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. 2 ed., Academic Press, 1162 p., 2005.

VAZ, J. A. M. **Avaliação oficial da eficácia de vacinas anti-rábicas para o uso animal de origens e procedências diferentes**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Microbiologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

ZEE, Y.C. Rhabdoviridae. In: BIBERSTEIN, E.L., Zee, Y. C. **Review of Microbiology**. 4 ed. Blackwell Scientific publications, Inc. Boston. p. 533-538, 1992.

YULE, G. U.; C. B. E.; M. A.; F. R. S.; KENDALL, M. A. **Introdução à Teoria da Estatística**. Rio de Janeiro, 679 p. , 1948.

WARREL, M. J.; WARREL, D. A. M. Rabies and other lyssavirus diseases. **Lancet**, v. 363, p. 959-969, 2004.

WEBSTER, L. T.; DAWSON, J. R. Early diagnosis of rabies by mouse inoculation: measurement of humoral immunity to rabies by mouse protection test. **Proc. Soc. Biol. Med.**, v.32, p. 570-573, 1935.

WEBSTER, W. A.; CASEY, G. A. In: **Rabies**. CAMPBELL, J. B.; CHARLTON, K. M. (eds.) Kluwer Academic Press, Boston Massachusetts, p. 201-222, 1988.

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

WHITBY, J. E.; HEATON, P. R.; WHITBY, H. E.; O'SULLIVAN, E.; JOHNSTONE, P. Rapid detection of rabies and rabies-related viruses by RT-PCR and enzyme-linked immunorbent assay. **Journal Virological Methods**, Amsterdam, v. 69, p. 63-73, 1997a.

WIKTOR, T. J.; KOPROWSKI, H. Monoclonal antibodies against rabies virus produced by somatic cell hybridization: detection of antigenic variants. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.75, p. 3938-3942, 1978.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. **Expert Committee on Rabies**. WHO technical report series n° 824, p. 7. Eight report World Health Organization, Geneva, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. **Workshop on genetic and antigenic molecular epidemiology of Lyssaviruses**. Geneva, 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. **Expert consultation on rabies**. WHO technical report series, v. 931, p. 1-121, Geneva, 2004.

WUNNER, W. H. Rabies virus. In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W. H. **Rabies**, San Diego, Academic Press, p. 23-77, 2002.

## APÊNDICE A – Artigo 1

### CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA RAIVA BOVINA DE 1996 A 2006 NO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL

**Giovana C.A. MATTA<sup>1</sup>, Darci L.P. NOCITI,<sup>1</sup> Adolorata A.B. CARVALHO<sup>2</sup>,  
Ricardo P. NOCITI<sup>2</sup>, Samir I. SAMARA<sup>2</sup>**

1- Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Av. Fernando Correa da Costa, s/n, Coxipó, CEP: 78060-900, Cuiabá, MT, Brasil. Tel. (65) 3025-6649 (65) 9923-4443. E-mail: [giovana.almeida@agricultura.gov.br](mailto:giovana.almeida@agricultura.gov.br)

#### RESUMO

Aspectos epidemiológicos de todos os casos de raiva bovina ocorridos no Estado de Mato Grosso durante os anos de 1996 a 2006 foram avaliados realizando pela análise da Curva Epidêmica, através do cálculo da somatória, média, desvio padrão, valores máximos e mínimos da ocorrência de casos de raiva nos três biomas do estado (Amazônia, Pantanal e Cerrado), a distribuição sazonal e a situação da doença no estado em relação ao panorama nacional. Levou-se em consideração o mês e o ano de ocorrência da raiva e a região geográfica de origem do material. Verificou-se que a variação no número de casos positivos da enfermidade tem sido crescente nos últimos anos, principalmente na região do Cerrado matogrossense, que apresentou tendência de aumento anual. A partir do ano de 2004 a região do Cerrado passou da situação de enzootia para epizootia, evidenciando sua importância na ocorrência da raiva em Mato Grosso.

**PALAVRAS-CHAVE:** raiva, bovinos, epidemiologia, biomas, Mato Grosso

2- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal

## ABSTRACT

An epidemiological survey cases of bovine rabies occurred in Mato Grosso during the years 1996 to 2006 was conducted by the analysis of the Epidemic Curve, calculating the sum, average, standard deviation, maximum and minimum values of the occurrence of rabies in three ecosystems (Amazon, Pantanal and Cerrado), seasonal distribution and the disease situation in the state on the national scene. It took into account the month and year of occurrence of rabies and geographic region of origin of the material. It was found that the variation in the number of positive cases of rabie was increasing in recent years, with the largest number of cases in the Cerrado region, which showed a trend of annual increase. From the year 2004 the Cerrado ecosystem passed the situation of enzootic to epizootic, showing your relevance in the occurrence of rabies in MT state.

**KEY WORDS:** rabies, cattle, epidemiology, biomes, Mato Grosso

## INTRODUÇÃO

A raiva, causada por um vírus RNA do gênero *Lyssavirus*, família Rhabdoviridae, é uma das viroses mais importantes para a pecuária e para a saúde pública no Brasil. Está distribuída em quase todo o mundo, tanto nos animais domésticos, quanto em animais silvestres, que servem como reservatórios por longos períodos (ACHA; SZYFRES, 1986). No Brasil, a caracterização antigênica e genética de amostras de vírus da raiva tem possibilitado a diferenciação em pelo menos duas variantes: variante canina (variante 1) e variante de morcego hematófago *Desmodus rotundus* (variante 3) (ITO, 2005). Dentre as espécies de morcegos hematófagos, o *Desmodus rotundus* é o mais abundante nas Américas, e tem sido considerado o maior responsável pela transmissão da raiva aos herbívoros (BELLOTO, 2001). Os principais fatores que contribuem para que a raiva nos herbívoros domésticos no Brasil se dissemine ainda de forma insidiosa e preocupante são: aumento da oferta de alimento para

morcegos, representado pelo significativo crescimento dos rebanhos; ocupação desordenada, caracterizada por macromodificações ambientais, como desmatamento e construção de rodovias e hidroelétricas, que alteraram o ambiente dos morcegos, obrigando-os a procurar novas áreas e outras fontes de alimentação; oferta de abrigos artificiais, representados pelas construções, como túneis, cisternas, casas abandonadas, bueiros, fornos de carvão desativados e outros (DELPIETRO, 2000); e principalmente a atuação insatisfatória, em alguns estados brasileiros, na execução do Programa Estadual de Controle da Raiva dos Herbívoros (BRASIL, 2005). Estima-se que no Brasil a raiva dos herbívoros cause um prejuízo direto de aproximadamente U\$ 25 milhões de dólares a cada ano, com morte de 40.000 bovinos e perdas indiretas de aproximadamente U\$ 32 milhões de dólares (KOTAIT et al., 2001). O Estado de Mato Grosso possui área de 903.357,908 km<sup>2</sup>, 141 municípios e três biomas: cerrado, pantanal e Amazônia. Possui o maior rebanho bovino do país, com 26.208.468 animais (INDEA-MT, 2007). Porém a epidemiologia da raiva bovina no Estado é praticamente desconhecida, devido à escassez de trabalhos sobre o assunto. O presente estudo teve como objetivo definir as características epidemiológicas da raiva bovina no estado de Mato Grosso, conhecendo-se a distribuição sazonal da raiva bovina e a relação do efetivo bovino nos três biomas do estado com os casos de raiva.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As amostras foram encaminhados ao Laboratório de Apoio à Saúde Animal (LASA), pertencente ao Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso (INDEA/MT), onde foram analisadas pelas técnicas de Imunofluorescência Direta (IFD) com o uso de conjugado anti-rábico policlonal marcado pelo isotiocianato de fluoresceína (GOLDWASSER & KISLING, 1958) e a prova biológica de inoculação intracerebral em camundongos (IIC) (DEAN et al., 1996 e KOPROWISKI, 1996), conforme recomendação da OIE.

Os dados analisados foram obtidos a partir de 2.225 amostras de cérebros de bovinos machos e fêmeas, diversas idades e cruzamentos raciais, provenientes de 136 municípios do Estado de Mato Grosso durante o período de 1996 a 2006. Para organização dos dados, levou-se em consideração o mês e o ano de ocorrência da raiva e a região geográfica de origem do material com base no mapa de divisão de biomas do IBGE (2007). Com a colaboração da SEPLAN (Secretaria de Planejamento do Estado de Mato Grosso), classificou-se os diferentes municípios envolvidos conforme sua localização nas regiões de Cerrado, Pantanal e Amazônia (Figura 1). A análise da curva epidêmica foi feita através do cálculo da somatória, média, desvio padrão, valores máximos e mínimos da ocorrência de casos de raiva nos três ecossistemas do estado de Mato Grosso, Brasil, entre os anos de 1996 a 2006 (GOMES, 1967; JEKEL, 1999).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No contexto geral do período de 1996 a 2006, das 2.225 amostras com suspeitas clínicas, foram confirmadas laboratorialmente 745 (33,5%) casos de raiva bovina em 95 (67,4%) dos 141 municípios do estado de Mato Grosso e 69,9% sobre os 136 municípios que enviaram (Tabela 1). No período total do estudo, todos os estados do Brasil notificaram 14.100 casos, dos quais 745 (5,3%) foram do estado de Mato Grosso (Tabela 2).



**Tabela 01- Número de amostras positivas no diagnóstico da raiva bovina distribuídas em municípios que encaminharam amostras e municípios com bovinos positivos para raiva - Mato Grosso - 1996 - 2006**

Ano	Amostras examinadas	Positivas	% positivas	Municípios que enviaram amostras	Municípios com amostras positivas	% municípios com casos de raiva	% total
1996	115	35	30,4	42	20	47,7	14,2
1997	142	40	28,2	75	19	25,3	13,4
1998	206	65	31,6	55	22	40,0	15,6
1999	180	64	35,6	50	18	36,0	12,8
2000	183	57	31,2	72	30	41,7	21,3
2001	214	58	27,1	71	24	33,8	17,0
2002	267	76	28,5	75	30	40,0	21,3
2003	218	61	28,0	75	27	36,0	19,2
2004	202	77	38,1	70	31	44,3	22,0
2005	199	83	41,7	77	34	44,2	24,1
2006	299	129	43,1	75	33	44,0	23,4
<b>Total</b>	<b>2225</b>	<b>745</b>	<b>33,5</b>	<b>136</b>	<b>95</b>	<b>69,9</b>	<b>67,4</b>

Fonte: INDEA (Dados não publicados).

**Tabela 2 – Casos de raiva bovina no Brasil e no estado de Mato Grosso – 1996 – 2006**

	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	Total
Brasil	1.083	1.124	1.150	1.469	1.633	1.434	1.377	1.307	1.192	1.152	1.179	14.100
MT	35	40	65	64	57	58	76	61	77	83	129	745
%	3,2	3,6	5,7	4,4	3,5	4,0	5,5	4,7	6,5	7,2	10,9	5,3

Fonte: MAPA (Dados não publicados).

No estado de Mato Grosso, observamos um crescimento linear de casos notificados ao longo do período estudado. Provavelmente este aumento venha ocorrendo em razão da recente implantação do Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH), executado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em conjunto com órgãos de defesa animal estaduais. O PNCRH que foi instituído no ano de 1966, embora

suas ações só começaram a ser executadas oficialmente a partir do ano 2000, estabelece suas ações visando o efetivo controle da ocorrência da raiva dos herbívoros no Brasil. Esse objetivo é alcançado por meio da vacinação estratégica de espécies suscetíveis e do controle populacional do seu principal transmissor, o *Desmodus rotundus*, associados a outras medidas profiláticas e de vigilância. Várias unidades da federação possuem legislação própria que detalha as ações específicas sobre o programa em nível estadual, em apoio às normas federais. Estes estados, dentre eles Minas Gerais e São Paulo, desenvolvem programas organizados, com ações definidas quanto ao controle da espécie de morcego hematófago (*Desmodus rotundus*), atividades educativas, diagnóstico laboratorial, estímulo à vacinação dos herbívoros domésticos, cadastramento de abrigos e vigilância epidemiológica. (MAPA, 2005). Por outro lado, a tendência é de que com as ações cada vez mais efetivas do programa, o estado de Mato Grosso apresente aumento do número de casos, aproximando de valores mais substanciais, com o aumento de notificações, e a partir da conscientização de produtores e efetiva fiscalização, ocorra a posteriori uma queda nos números de casos de raiva bovina, em decorrência da eficácia da execução do PNCRH. Com relação ao número de casos de raiva durante o período estudado em Mato Grosso, a despeito do tamanho do rebanho bovino estadual, o número de casos está muito aquém da realidade. De acordo com Kotait et al. (1998), para cada caso de raiva bovina notificado, cerca de 10 casos não o são. Esta assertiva corrobora com a situação atual da raiva bovina no Brasil, principalmente no estado de Mato Grosso, onde o elevado número de subnotificações compromete a eficácia do controle desta enfermidade. O estado de Mato Grosso possuindo o maior rebanho bovino do país, uma área territorial de quase um milhão de quilômetros quadrados e três biomas diferenciados, deve ter a preocupação de incrementar e definir medidas profiláticas mais efetivas contra a raiva, principalmente porque a velocidade de migração da raiva varia de 10 a 40 km por ano, (LORD, 1988) até 200 km (TADDEI, 1991). Por outro lado devem ser avaliadas as

condições ambientais favoráveis à manutenção do agente etiológico e disseminação do vírus pelos morcegos que encontram alimento em abundância principalmente no gado bovino. Observando-se a ocorrência da raiva bovina conforme o ecossistema de origem, (tabela 4), o Cerrado é o bioma que oferece as melhores condições de disseminação da doença, possivelmente pelos fatores ambientais e climáticos que possibilitam meios propícios para manutenção dos morcegos, dentre eles o hematófago. No Brasil o Cerrado ocupa uma área de 1,4 milhões de km<sup>2</sup>, sendo que, em Mato Grosso a área ocupada pelo Cerrado é de aproximadamente 300 mil km<sup>2</sup>, cerca de 34% do território estadual (FERREIRA, 2001).

**Tabela 04 – Quantidade e porcentagem de casos de raiva bovina distribuídos conforme bioma - Mato Grosso, Brasil - 1996 - 2006.**

Ano	Cerrado	Pantanal	Amazônia	Total
1996	23 (65,7%)	8 (22,9 %)	4 (11,4%)	35 (4,7%)
1997	19 (44,8%)	10 (26,3%)	11 (29%)	40 (5,4%)
1998	41 (63,1%)	18 (27,7%)	6 (9,2%)	65 (8,7%)
1999	40 (62,5%)	20 (31,2%)	4 (6,2%)	64 (8,6%)
2000	43 (75,4%)	9 (15,8%)	5 (8,8%)	57 (7,6%)
2001	31 (53,4%)	16 (27,6%)	11 (19,0%)	58 (7,8%)
2002	48 (63,2%)	19 (25,0%)	9 (11,9%)	76 (10,2%)
2003	41 (67,2%)	14 (23,0%)	6 (9,9%)	61 (8,2%)
2004	63 (81,9%)	11 (14,2%)	3 (3,9%)	77 (10,3%)
2005	59 (71,0%)	13 (15,7%)	11 (13,2%)	83 (11,1%)
2006	109 (84,4%)	15 (11,7%)	5 (3,9%)	129 (17,4%)
Total	517 (69,4%)	153 (20,5%)	75 (10,1%)	745 (100,0%)

Adicionalmente, o homem vem exercendo grande pressão sobre este bioma, convertendo áreas de mata à produção agropecuária. É certo que as taxas de destruição aumentaram consideravelmente, principalmente através da expansão da área cultivada de soja e o crescimento do rebanho bovino (FERREIRA, 2001). Por isso, não pode ser descartada a possibilidade desta biodiversidade tanto do Pantanal quanto da Amazônia albergar espécies

diferentes das conhecidas até o momento como reservatório para manutenção do vírus da raiva. A Amazônia é o ecossistema de maior diversidade biológica do mundo, representando a mais extensa floresta tropical existente. É também o maior bioma brasileiro, sendo que de seus aproximadamente 5,5 milhões de km<sup>2</sup> de extensão em torno de 3,3 milhões de km<sup>2</sup> estão em território brasileiro, e desses, pelo menos 550 mil km<sup>2</sup> estão dentro do estado de Mato Grosso (54% do território estadual). Juntamente com o Cerrado, é o bioma que apresenta as maiores taxas de conversão de florestas em uso agropecuário. Outras pressões significativas sobre os ecossistemas amazônicos estão representadas pela construção de barragens para produção de energia elétrica e pela indústria de extração madeireira (FERREIRA, 2001). Há possibilidade também de que a ocorrência de menor número de casos de raiva registrados nessa região se deva as condições geográficas características da região, da distância dos grandes centros, da dificuldade de acesso devido a carência de rodovias e também ao pequeno contingente de profissionais médicos veterinários nos municípios localizados nesse bioma. No bioma Cerrado no período de 1996 a 2006, o número de casos de raiva foi crescente, onde a situação de enzootia nos anos de 1996 a 2003 passa para epizootia nos anos de 2004 a 2006 (Figura 2). No bioma Pantanal (Figura 3), neste mesmo período, o número de casos manteve-se na maior parte do tempo como enzootia, tendo picos de epizootia nos anos de 1998 a 1999 e no ano de 2002. No bioma Amazônia (Figura 4), houve três momentos de epizootia, nos anos de 1997, 2001 e 2005. Nos demais anos a situação da raiva foi de enzootia. A tentativa de confrontar o número de bovinos com o número de casos de raiva e sua distribuição por municípios de cada ecossistema (Tab. 3), permite tão somente constatar no mesmo período, que existe uma proporcionalidade direta entre os biomas com um efetivo maior de bovinos, com um maior percentual de ocorrência de casos de raiva.

**Tabela 3 – Distribuição do efetivo bovino do Estado de Mato Grosso nos municípios caracterizados pelos três biomas, conforme a ocorrência da raiva bovina, entre os anos de 1996 e 2006.**

Bioma	Efetivo bovino total	Total de municípios	Municípios com casos de raiva	Efetivo bovino dos municípios com casos de raiva
Cerrado	14.705.695	95	65	10.849.787
Amazônia	9.621.830	42	23	6.652.690
Pantanal	1.880.943	04	04	1.880.943
Total	26.208.468	141	92	19.383.420

No contexto geral, a análise da sazonalidade da raiva durante o período estudado em Mato Grosso (gráfico 4), comprovou-se um aumento nos casos de raiva na estação seca, nos meses de julho e agosto, semelhante a Minas Gerais e São Paulo, onde a maior incidência é de abril a agosto (SILVA et al., 2001) e no Nordeste do Brasil, os meses de maior ocorrência vão de março a agosto (LIMA et al., 2005). No Mato Grosso do Sul, a época de maior incidência é o outono (abril a junho) (MORI et al., 2004). TADDEI et al. (1996), estudaram a influência climática nos casos de raiva no Estado de São Paulo de 1981 a 1987. Assim puderam observar uma maior ocorrência de raiva entre os meses de abril e junho. De acordo com BRASIL (2005), a restrição da atividade alimentar dos morcegos, provocada pelas chuvas torrenciais, parece estar relacionada com a fisiologia da termorregulação, pois os pêlos do corpo molhados pela chuva podem prejudicar sua regulação térmica. Além disso, as três espécies de morcegos hematófagos, em condições normais, não são boas termorreguladoras. As gotas de chuva podem ainda prejudicar a ecolocalização, dificultando a percepção dos morcegos em relação ao seu ambiente. Estas observações estão de acordo com os resultados deste trabalho, uma vez que o maior número de casos de raiva deu-se durante o período de seca.

## **CONCLUSÃO**

No período estudado (1996 a 2006) foram tabulados os resultados de diagnóstico da raiva bovina no estado de Mato Grosso no qual constatou-se que a variação no número de casos positivos da enfermidade tem sido crescente nos últimos anos, sendo que o maior número de casos deu-se no Cerrado, que apresentou uma tendência de aumento anual, diferente do Pantanal e Amazônia, onde houve diminuição. A partir do ano de 2004 o ecossistema Cerrado passou da situação de enzootia para epizootia, ficando, pois, evidente que a situação problema no estado de Mato Grosso se direciona mais para o bioma Cerrado, região onde deve ser priorizada a implantação de medidas sanitárias mais rígidas com relação ao controle da raiva bovina.

## REFERÊNCIAS

ACHA, P. N. Epidemiology of paralytic rabies and bat rabies. **Boletín de la Oficina Internacional de Epizootias**, v.67, n.3-4, p. 343-382, 1967.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles communes al hombre y a los animales**. 2nd ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, p. 502-526, 1986.

AVILA PIRES, F.D. De Biologia dos Quirópteros e Raiva dos Herbívoros. Rio de Janeiro, **Casa Valle**, p. 80-88.1965.

BELLOTO, A. J. Raiva transmitida por morcegos nas Américas: impacto na saúde pública e na produção. In: Seminário internacional, morcegos como transmissores da raiva, **Programas e Resumos**, v. 1, p. 24-25, São Paulo, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros. PNCRH. Secretaria de Defesa Agropecuária. DAS. Departamento de Saúde Animal. DSA. **Controle da raiva dos herbívoros: Manual técnico**, Brasília, 104p., 2005.

CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL DO BRASIL. Disponível em: <http://www.conservacao.org>. Acesso em: 25 out. 2008.

DEAN, D. J.; ABELSETH, M. K.; ATANASIU, P. Fluorescent Antibody test. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWISKI, H. Laboratory techniques in rabies. Geneva, **World Health Organization**, p. 88-95, 1996.

DELPIETRO, H. A. Aspectos econômicos y sanitarios del problema de la rabia parálitica y de la agresión del vampiro. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, v.1, São Paulo. **Programas e Resumos: De Paula Print Artes Gráficas**, 2000.

FERREIRA, J.C.V., **Mato Grosso e seus municípios**, 19 ed. Cuiabá: Secretaria de estado da Educação, 660 p., 2001.

GOLDWASSER, R. A.; KISSILING, R. E. Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. **Proceedings of the Society Experimental Biology Medicine**, Baltimore, v. 98, p. 219-223, 1958.

GOMES, F. P. **Iniciação à Estatística**. São Paulo, 205p., 1967.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA - disponível em: <http://mapas.ibge.gov.br/biomas2/viewer.htm>. Acesso em: 06 dez. 2008.

INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE MATO GROSSO – INDEA/MT. **Efetivo bovino do Estado de Mato Grosso, ano 2007**. Dados não publicados. 2007.

ITO, F. H. **Programa Nacional do Controle da Raiva em Herbívoros: Revisão sobre raiva em herbívoros.**, 2005. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em 20 de maio de 2007.

JEKEL, J. F.; ELMORE, J. G.; KATZ, D. L. **Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva**. Porto Alegre: Artmed. 328 p., 1999.

KOPROWISKI, H. The mouse inoculation test. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWISKI, H. **Laboratory techniques in rabies**. 4th ed. Geneva, World Health Organization, p. 80-87, 1996.

KOTAIT, I.; GONÇALVES, C. A.; PERAS, N. F.; SOUZA, M. C. A. M.; TARQUETA, M. C. **Profilaxia da raiva dos herbívoros**. In: \_\_\_\_\_ São Paulo: Instituto Pasteur, 15p.(Manuais, 1), 1998.

KOTAIT, I. Controle da raiva dos herbívoros – vacinação: **Past in Pasteur Informa**, São Paulo, n. 6, p. 3, 2001.



- LIMA E. F.; CORREA, F. R.; CASTRO R. S.; GOMES A. A. B.; LIMA F. S. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, p. 250-264, 2005.
- LORD, R. D. Control of vampire bats. In: GREENHALL, A. M.; SCHIMIDT, U. (Ed). **Natural history of vampire bats**. Florida: CRC Press, p. 215-226, 1988.
- MORI, A. E., LEMOS, R. A. A.; KADRI A. Raiva. In: R. A. A. (Organizador). **Série Qualificação Rural**, v.2, p. 63-86, 2004.
- SEMINÁRIO INTERNACIONAL DA RAIVA, São Paulo, 64 p., **Programas e Resumos**, 2000.
- SILVA, J. A.; MOREIRA E. C., HADDAD J. P. A.; MODENA C. M.; TUBALDINI, M. A. S. Distribuição temporal e espacial da raiva bovina em Minas Gerais, 1976-1997. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 53(3) p. 263-272, 2001.
- TADDEI, V. A.; GONÇALVES, C. A.; TADEI, W. J.; KOTAIT, I.; ARIETA, C. Distribuição do morcego vampiro *Desmodus rotundus* (Chiroptera Phyl – Lestomidae) no Estado de São Paulo e a raiva dos animais domésticos. Campinas: CATI, p. 1-107, 1991. **(Publicação Especial Secretaria Agricultura e Abastecimento)**.
- TADDEI, V. A. Sistemática de quirópteros. **Boletim do Instituto Pasteur**, São Paulo, v.1, p. 3-15, 1996.
- THRUSFIELD, M. **Epidemiologia veterinária**. 2. Ed., Roca: São Paulo, 547p. , 2004.
- YULE, G. U.; C. B. E.; M. A.; F. R. S.; KENDALL, M. A. **Introdução à Teoria da Estatística**. Rio de Janeiro, 679 p. , 1948.

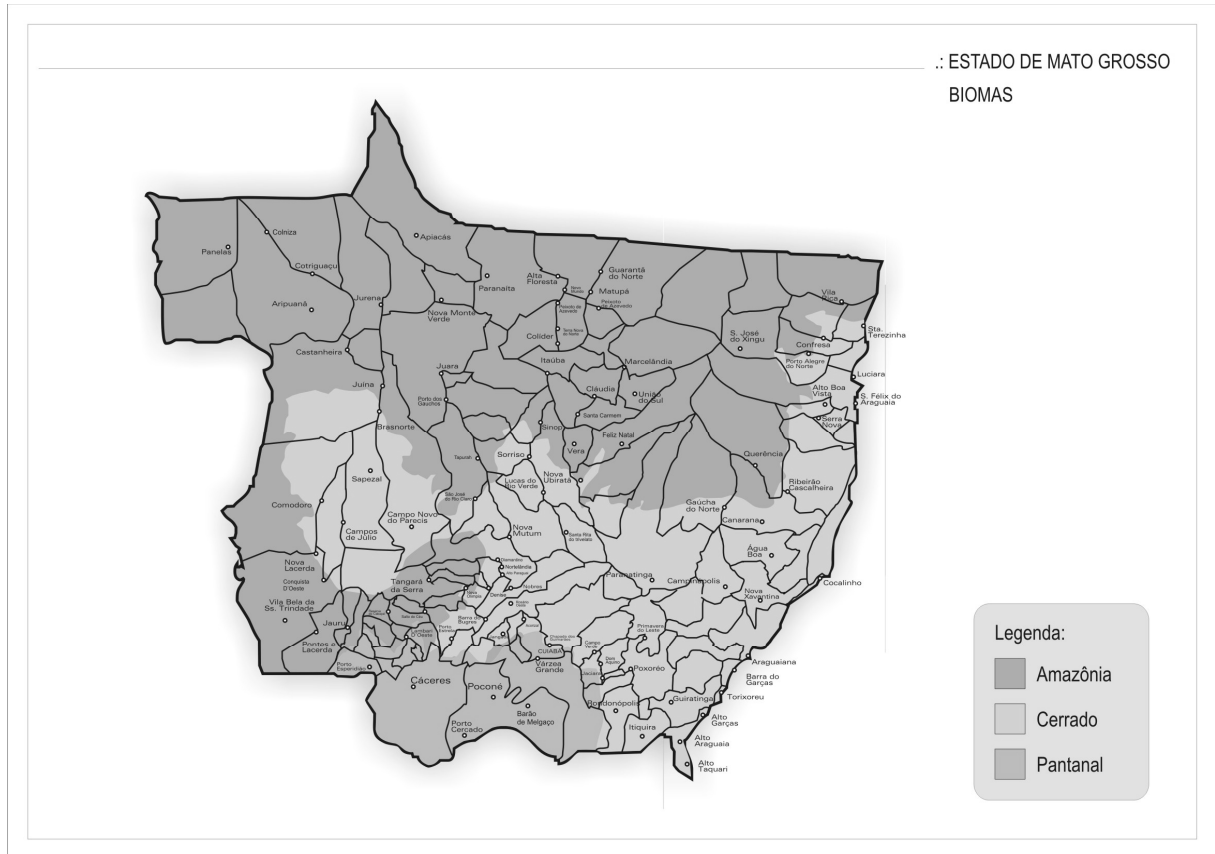


Figura 1 – Distribuição dos biomas no Estado de Mato Grosso.

**APÊNDICE 2 – Artigo 2****CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO  
VÍRUS RÁBICO ISOLADO DE BOVINOS NO ESTADO DE MATO GROSSO,  
BRASIL**

**Giovana C.A. MATTA<sup>1</sup>, Darci L.P. NOCITI<sup>1</sup>, Adolorata A.B. CARVALHO<sup>2</sup>,  
Samir I. SAMARA<sup>2</sup>, Fumio H. ITO<sup>3</sup>, Takeo SAKAI<sup>4</sup>, Takuya ITOU<sup>4</sup>, Go SATO<sup>4</sup>, Yuki  
KOBAYASHI<sup>4</sup>, Nobuyuki MOCHIZUKI<sup>4</sup>**

1 Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Av. Fernando Correa da Costa, s/n, Coxipó, CEP: 78060-900, Cuiabá, MT, Brasil. Tel. (65) 3025.6649 (65) 9923-4443. E-mail: giovana.almeida@agricultura.gov.br

2- Universidade Estadual Paulista , Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal

3- Universidade de São Paulo, Laboratório de Zoonoses Virais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

4- Universidade de Nihon, Kanagawa, Japão, College of Bioresource Sciences, Laboratório Central de Diagnóstico

**RESUMO**

53 isolados de vírus rábico (VR) originários do estado de Mato Grosso, Brasil, foram caracterizados geneticamente. Foi realizada a análise filogenética e geográfica do seqüenciamento parcial da nucleoproteína (gene N) desses isolados. Os isolados de bovinos, que se encontravam no grupo do VR relacionado a morcegos hematófagos, foi posteriormente subdividido em sete subgrupos genéticos. Estes subgrupos foram distribuídos em regiões de terras planas, com alguns subgrupos separados por formações de pequenas montanhas e hidrografia. Estes resultados indicam que a raiva dos bovinos é derivada de

diversas variantes regionalmente definidas, o que sugere que sua distribuição geográfica está relacionada as populações de morcegos hematófagos.

**PALAVRAS-CHAVE:** vírus rábico, bovinos, análise filogenética, análise geográfica

## **GENETIC CHARACTERIZATION AND GEOGRAPHIC DISTRIBUTION OF RABIES VIRUS ISOLATES FROM CATTLE IN MATO GROSSO, BRAZIL**

### **ABSTRACT**

53 rabies vírus (RV) isolates originating from the state of Mato Grosso, Brazil cattle were genetically characterized. Partial nucleoprotein gene sequences of these isolates were phylogenetically and geographically analyzed. Cattle isolates, which clustered with the vampire bat related RV group, were further subdivided into seven subgroups. These subgroups were distributed widely in lowland regions, with some subgroups separated from each other by little mountain ranges. These results indicate that cattle rabies is derived from several regionally-defined variants, which suggests that its geographical distribution is related to that of the vampire bat population.

**KEY WORDS:** rabies virus, cattle, RT-PCR, phylogenetic analyze, geographical analyze.

### **INTRODUÇÃO**

A raiva é uma das mais sérias e disseminadas zoonoses do mundo. Descrita pelo menos há quatro milênios, a raiva é uma das doenças infecciosas mais antigas que se tem conhecimento (RUPPRECHT et al., 2001). Trata-se de uma enfermidade que acomete todos os animais de sangue quente e causa uma encefalomielite aguda e fatal, resultante principalmente da transmissão do vírus pela mordida de um animal doente (ACHA; ZYFRES, 1986; KAPLAN; KOPROWSKI, 1980). O vírus rábico (VR) pertence à ordem *Mononegavirales*, família

*Rhabdoviridae*, e ao gênero *Lyssavirus*. Apresenta morfologia característica em forma de bala de revólver, diâmetro de 75 nm e comprimento de 100 a 300 nm (KAPLAN et al., 1986; TORDO, 1996; TORDO; POCH, 1988). O vírus da raiva é constituído por dois elementos estruturais principais: uma ribonucleoproteína (RNP) complexa e o envelope que envolve a RNP. A RNP é formada por um genoma (ácido ribonucléico – RNA), que contém aproximadamente 12.000 nucleotídeos, possui fita simples, polaridade negativa e não é segmentado (MCCOLL et al., 2000). Estudos bioquímicos têm demonstrado que além do RNA o vírus é composto estruturalmente por cinco proteínas: uma RNA polimerase RNA-dependente (proteína L de 190 KDal), responsável pelas atividades enzimáticas necessárias para transcrição e replicação do RNA viral, uma glicoproteína de superfície (proteína G de 65 a 80 KDal), uma nucleoproteína (proteína N de 57 a 62 KDal), que é um dos maiores componentes do vírus e a maior proteína interna do complexo helicoidal (WUNNER, 2002). É fosforilada em um único sítio, exercendo a função de proteger a RNP (TORDO, 1996) e é a mais importante no processo de encapsidação (TORDO et al., 1986). Uma fosfoproteína (proteína P, NS ou M1 de 35 a 41 KDal), que é uma proteína multifuncional e um componente chave do complexo RNA polimerase associada ao vírion, sendo uma proteína regulatória na replicação do genoma viral, e uma proteína matriz (proteína M ou M2 de 22 a 25 KDal) (BOURHY et al., 1990; SMITH, 1996; TORDO, 1996; WUNNER, 2002). Atualmente são reconhecidos sete genótipos do VR (BOURHY et al., 1993; GOULD et al., 1988; POUNDER, 2003), sendo o principal o VR clássico, de distribuição mundial e atualmente o único genótipo isolado nas Américas. Os principais reservatórios do VR são diferentes de acordo com a região onde o vírus ocorre, e cães e morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*) são os maiores vetores do VR no Brasil. Morcegos vampiros, amplamente distribuídos na América Latina, transmitem o VR a espécies herbívoras e são reconhecidos como importante vetor na raiva dos herbívoros (ARELLANO-SOTA, 1988).

Estudos epidemiológicos moleculares baseados na técnica de RT-PCR (Reação de Polimerase em Cadeia e Transcriptase Reversa), associados ao seqüenciamento direto, é uma técnica usual para classificação de vírus de animais, incluindo o VR, e ajuda a estabelecer um melhor entendimento das relações epidemiológicas (HAAS, 1997). Entre os genes do VR, o gene N, em particular, tem sido empregado com sucesso em estudos de epidemiologia molecular devido a suas seqüências serem mais conservadas, e seus produtos são então mais utilizados para fins de diagnóstico (SACRAMENTO et al., 1991) . Neste estudo, para definir as características epidemiológicas da raiva, foram realizadas análises filogenéticas e os achados foram comparados com a distribuição geográfica de 53 amostras de VR isolados de bovinos no Estado de Mato Grosso, Brasil.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

No presente estudo, foram selecionadas 70 amostras de tecido encefálico provenientes de bovinos machos e fêmeas, diversas idades e cruzamentos raciais, coletadas no ano de 2007, sendo que destas amostras, 53 foram aproveitadas para realização de tipificação genética molecular. Dentre as amostras analisadas, 37 pertenciam ao bioma Cerrado, 12 ao Pantanal e 04 à Amazônia. Todas as amostras foram diagnosticadas positivas para raiva pelo teste de imunofluorescência direta (IFD) com o uso de conjugado anti-rábico policlonal marcado pelo isotiocionato de fluoresceína (GOLDWASSER & KISSLING, 1958) e a prova biológica de inoculação intracerebral em camundongos (IIC) (DEAN et al., 1996 e KOPROWISKI, 1996). Os ácidos nucléicos foram extraídos com o kit diagnóstico comercial QIAamp® Viral RNA (QIAGEN, Hilden, Alemanha), seguindo o protocolo do fabricante. A extração foi realizada no laboratório de Zoonoses Virais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, USP.

A técnica de RT-PCR e a purificação dos produtos amplificados foi realizada conforme o procedimento publicado por KOBAYASHI et al., (2005), onde foi realizada a amplificação da seqüência de 203 nucleotídeos da nucleoproteína N, que corresponde as posições 109-311 da amostra PV (Pasteur Virus). Este locus está associado a divergências filogenéticas de pares e o mesmo já foi utilizado em outros estudos filogenéticos (ITO, 2001b).. Os produtos amplificados foram confirmados através de eletroforese em gel agarose 1,5%, com coloração de brometo de etídio, e o cDNA foi purificado com o kit QIAquick Gel Extraction® (QIAGEN, Hilden, Alemanha). Os produtos amplificados do PCR e do nested-PCR foram enviados ao Laboratório Central de Diagnóstico, do College of Bioresource Sciences, da Universidade de Nihon, Fujisawa, Kanagawa, Japão, para fins de seqüenciamento, análises genética e filogenética. Os estudos dos alinhamentos de nucleotídeos entre as amostras foram realizados pelo software Clustal X (THOMPSON et al., 1997), e a árvore filogenética foi construída utilizando-se o método de SAITOU e NEI (1987), com o algoritmo de Neighbor-Joining e vírus Mokola foi utilizado como grupo externo. A significância estatística das filogenias construídas foi estimada através da análise de bootstrap de 1.000 replicações. Os grupamentos com valores de bootstrap maiores que 70% foram interpretados como evidência de grupamento filogenético (HILLS; BULL, 1993) e a homologia entre as seqüências de nucleotídeos foi identificada usando-se o software BIOEDIT (HALL, 1999). As origens geográficas do seqüenciamento de isolados do VR de bovinos foram plotadas a nível municipal dentro do estado de Mato Grosso, utilizando-se o software MapInfo Professional GIS (ver. 8.0 software MapInfo Japan K. K., Tokyo, Japan). Por meio destes resultados, foram deduzidas as linhagens das variantes do vírus da raiva encontradas no Estado de Mato Grosso.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta análise indicaram que as 53 amostras pertenciam ao genótipo 1 do gênero *Lyssavirus*, com homologia entre os 203 nucleotídeos de pelo menos 83.7%. Todos os 53 isolados foram identificados como VR relacionado a morcegos hematófagos, que possui um grande número de linhagens filogenéticas, pelo seqüenciamento e análise filogenética. Os VR analisados a partir de amostras de encéfalo bovino foram agrupados em sete subgrupos caracterizados pela alta identificação dos nucleotídeos (Figura 1). A localização geográfica dos isolamentos pertencentes aos sete subgrupos é demonstrada na Figura 2. Os municípios de Barra do Bugres, Cuiabá e Mirassol D' oeste, onde se encontram 3 das 5 amostras do subgrupo A encontram-se em regiões de baixas altitudes (entre 129 e 262 m). Com relação ao relevo, Barra do Bugres é formado pela Baixada do Rio Paraguai, sendo cortado por algumas pequenas serras. Cuiabá encontra-se no Planalto Guimarães e na Depressão do rio Paraguai, assim como Mirassol D' oeste. Já Matupá e Itaúba, onde foram encontradas as duas outras amostras, localizam-se na região da Floresta Amazônica, a altitudes entre 300 – 400 m, na região do Planalto Residual do Norte de Mato Grosso, sendo ainda Itaúba delimitada pelas serras do Cachimbo e dos Caiabés. Itiquira, único município representante do subgrupo B, localiza-se na região do Planalto Taquari-Itiquira, a 520m de altitude. Os municípios de Primavera do Leste e Paranatinga, onde foram coletadas duas das três amostras representantes do subgrupo C, localizam-se em regiões mais elevadas (600-636 m) sendo que Primavera encontra-se na região do Planalto dos Guimarães e Paranatinga na Depressão Interplanáltica Paranatinga. A terceira amostra pertence ao município de Cuiabá, já citado anteriormente. Os municípios de Santo Antonio de Leverger e Nossa Senhora do Livramento, onde foram localizadas as variantes pertencentes ao subgrupo D, são próximos e localizam-se na Depressão do Rio Paraguai, a baixas altitudes, variando entre 140-171 m. O subgrupo E faz parte de um novo grupo de variantes isoladas a partir da análise de 203 pares de base do gene



N. Este é representado por duas amostras localizadas no município de Jangada, também localizado na Depressão do Rio Paraguai e com altitude de 200m. O subgrupo F, também um novo grupo isolado, é representado por uma única amostra encontrada no município de Várzea Grande, também situado na Depressão do Rio Paraguai, com altitude de 185 m. E finalmente, o subgrupo G, representado por 31 amostras, em sua maioria no sul do Estado, e duas amostras localizadas na região norte. A maioria das amostras encontra-se no município de Mirassol D'oeste (10 amostras), que juntamente com os municípios vizinhos Barra do Bugres (5 amostras), Porto Estrela (2 amostras), e Lambari D'oeste (1 amostras) estão localizados na região da Baixada do Rio Paraguai, com altitude média de 130 m, sendo que Barra do Bugres e Porto Estrela possuem algumas serras em seu relevo. Outros dois municípios que possuem amostras do subgrupo G são Diamantino (1 amostra) e Alto Paraguai (1 amostra), com altitudes de 225 e 252 m, respectivamente. Alto Paraguai está localizado no centro de uma Província Serrana e pertence à Bacia do Prata. Já Diamantino encontra-se na região do Planalto dos Parecis. Várzea Grande, município já citado anteriormente, possui uma amostra, Alto Araguaia (1 amostra), município localizado mais a sudeste do Estado, na região do Planalto Taquari-Itiquira, com altitude de 662 m. Mais ao sul, na região do Pantanal Mato-grossense, à altitude de 118 m, encontra-se o município de Cáceres com 7 amostras pertencentes também ao subgrupo G. Ao Norte, encontra-se os municípios de Alta Floresta (1 amostra) e Colíder (1 amostra) do subgrupo G. Ambos os municípios localizam-se em região de Planalto, com altitudes de aproximadamente 300 m. Próxima à Colíder encontra-se a Serra do Cachimbo. Outras três amostras não se encaixaram em nenhum dos subgrupos sendo portanto, novos grupos distinguidos a partir deste estudo. As análises filogenéticas do gene N demonstraram que as amostras isoladas de bovinos estavam geneticamente relacionadas ao grupo do VR de morcegos vampiros, de acordo com FAVORETTO et al. (2000), que também estudaram amostras brasileiras usando anticorpos monoclonais e concluíram que

100% das amostras isoladas de bovinos pertenciam a variante do *Desmodus rotundus*. O padrão de distribuição dessas variantes difere quanto à origem geográfica, o que sugere que as características epidemiológicas das variantes do VR estejam associadas à ecologia das populações de morcegos hematófagos. As colônias de *Desmodus rotundus* geralmente escolhem as rotas mais curtas entre o abrigo e sua presa, mas se preciso for, viajam muitos quilômetros para encontrar a presa (ARELLANO-SOTA, 1988). Apesar de formarem colônias relativamente estáveis, os morcegos hematófagos costumam visitar regularmente abrigos vizinhos, o que de certa forma promove uma comunicação indireta entre a maioria das colônias de uma determinada área (LORD, 1980). Devido a este aspecto da ecologia do *Desmodus rotundus*, a disseminação da raiva nesta espécie é mantida através do contato entre indivíduos infectados de uma colônia e indivíduos suscetíveis de outra (MCCOLL et al., 2000; LORD, 1980). Segundo FORNES et al., (1974), os surtos de raiva em morcegos hematófagos costumam movimentar-se lentamente, a uma velocidade de aproximadamente 40 km por ano. A distribuição das variantes encontradas neste estudo tendem a serem separadas por regiões de montanhas, estando de acordo com observações de KOBAYASHI et al., (2006) e VELASCO -VILLA et al.,(2006). De acordo com FERREIRA (2001), o Estado de Mato Grosso possui poucas áreas de elevadas altitudes, sendo predominantes as regiões de planícies e depressões, o que facilita a disseminação do vírus pelas colônias de morcegos hematófagos. Segundo ROMIJIN et al., (2003), estes morcegos podem voar longas distâncias em busca de comida em extensas regiões, disseminando o vírus em um curto intervalo de tempo. Os grupos A e G tiveram distribuição disseminada, sendo suas amostras encontradas tanto na região sul como na região norte do Estado, apesar de possuir diversos rios entre as duas regiões e de bacias hidrográficas diferentes, o que não impediu o deslocamento do vírus. Esses achados, corroborados por ROMIJIN et al. (2003) sugerem que o VR relacionado a morcegos hematófagos tende a se espalhar por regiões de terras baixas. O subgrupo B,

representado somente por uma amostra, encontra-se na região de planalto a sudeste do Estado, de altitudes mais elevadas (520 m). Este fato pode explicar o isolamento desta variante específica nesta região. As três amostras do subgrupo C encontram-se também em áreas de planalto mais elevadas (em torno de 600 m), sendo que Cuiabá também possui região de depressão com altitudes mais baixas (165 m). As variantes pertencentes ao subgrupo D estão localizadas na região da Planície do Pantanal Mato-Grossense, região de baixas altitudes e que possui uma população de quirópteros pouco estudada. Talvez pelo regime de cheias e vazantes específico dessa região, esta variante tenha se tornado endêmica nesta região. As amostras do subgrupo E foram encontradas somente no município de Jangada, a 72 km da capital. Trata-se de uma região de baixas altitudes (200 m), porém circundada pela serra das Araras, o que pode favorecer o isolamento desta variante somente nesta região. A variante representante do subgrupo F está localizada em região de baixas altitudes (185 m) e bem próxima aos subgrupos C, D, E e G, tornando bem possível a existência desta variante nesses municípios vizinhos. As três amostras que não foram enquadradas em nenhum destes subgrupos por se tratarem de novas variantes, assim como as dos subgrupos D e E, estão localizadas na região do Pantanal, no município de Rondonópolis e em Nova Olímpia, a baixas altitudes (em torno de 200 m) sendo que Rondonópolis fica próxima à Serra de São Jerônimo, que assim como o Pantanal, serve de barreira para a disseminação destas variantes. O presente estudo indica que a raiva bovina é derivada de diversas variantes que não estão regionalmente bem definidas dentro do Estado de Mato Grosso. Por outro lado, as variantes estudadas por KOBAYASHI et al., (2006), em diversos Estados do Brasil, estavam regionalmente bem definidas. Estes achados implicam que a distribuição geográfica da raiva bovina é dependente da população de morcegos hematófagos, porque o maior transmissor da raiva bovina são os morcegos hematófagos (ARELLANO-SOTA, 1988). A diversidade genética entre variantes foi atribuída a aspectos relacionados a ecologia dos morcegos e a

variações topográficas do habitat. Conseqüentemente, parece que o VR pode estar circulando por populações de morcegos que habitam áreas contínuas, e apesar da distribuição das variantes mudar lentamente, barreiras naturais como montanhas podem ter um papel importante na delimitação de focos de raiva, resultando em variantes regionalmente diferenciadas do VR. KOBAYASHI et al., (2006) observou que as variantes do VR relacionadas aos morcegos hematófagos localizadas em regiões montanhosas estavam relacionadas com a altitude. Já em outro estudo realizado por KOBAYASHI et al., (2008), muitas variantes foram observadas dispersas por sobre potenciais barreiras, movendo-se das regiões de altas para baixas altitudes. A distribuição das variantes pelos biomas também foi observada neste trabalho, assim como em KOBAYASHI et al., (2008). Grande número de amostras analisadas neste estudo foi encontrado ao longo de rios, e muitas amostras caracterizadas como sendo da mesma variante estavam distribuídas ao longo do mesmo rio. Os morcegos hematófagos movimentam-se seguindo a trajetória dos rios, devido a abundância de abrigos e cavernas nas suas margens, onde geralmente são observados surtos de raiva em bovinos (LORD, 1980). Conseqüentemente, a presença de rios e refúgios adequados foi reconhecida como importante consideração no delineamento da incidência e disseminação da raiva dos bovinos transmitida por morcegos hematófagos. Grande parte das amostras analisadas neste estudo foi isolada de áreas adjacentes ligadas por rios, estando de acordo com observações epizoóticas da raiva bovina, sendo que muitas amostras caracterizadas como mesma variante estavam distribuídas ao longo do mesmo rio. Esse achados sugerem que a tendência de distribuição de variantes esteja relacionada ao comportamento dos morcegos hematófagos, estando a disseminação do VR relacionada a sua migração. A existência de numerosas espécies, distribuídas amplamente no território brasileiro, torna a história natural da raiva em morcegos uma questão ainda a esclarecer, assim como a manutenção de variantes do vírus da raiva em determinadas espécies de morcegos

insetívoros e determinando a transposição para outras espécies animais (spill-over) (ROMJIN, 2003). A análise filogenética de 1.335 nucleotídeos do gene N, da posição 89-1.423, de 19 amostras brasileiras de VR, comparadas com o vírus Mokola, revelou a existência de variante canina, variante de morcegos insetívoros (com subdivisão em variantes 1, 2 e 3), e variante de morcego hematófago. Considerando o grande número de espécies de morcegos existentes no Brasil, é provável que existam variantes do VR ainda desconhecidas (KOBAYASHI et al., 2005). No mais, a transmissão do VR relacionado a morcegos hematófagos parece ser mais prevalente em regiões de baixas altitudes e são limitadas pela distribuição de cadeias de montanhas. Similarmente, foi observado que a circulação do VR está relacionada à altitude, como também foi descrito por KOBAYASHI et al., (2006). Estudos epidemiológicos subseqüentes serão necessários para melhor avaliar as características temporais e espaciais da distribuição da raiva transmitida por morcegos hematófagos aos bovinos. Uma vez que as características epidemiológicas da transmissão da raiva bovina por morcegos hematófagos podem estar associadas a fatores topográficos e geográficos das áreas onde os bovinos são mantidos, tanto quanto a aspectos da ecologia dos morcegos.

## **CONCLUSÕES**

No período estudado (1996 a 2006) foram tabulados os resultados de diagnóstico da raiva bovina no Estado de Mato Grosso no qual constatou-se que a variação no número de casos positivos da enfermidade tem sido crescente nos últimos anos, sendo que o maior número de casos deu-se no Cerrado, que apresentou uma tendência de aumento anual, diferente do Pantanal e Amazônia, onde houve diminuição. A partir do ano de 2004 o ecossistema Cerrado passou da situação de enzootia para epizootia, ficando, pois, evidente que a situação problema no Estado de Mato Grosso se direciona mais para o bioma Cerrado, região onde deve ser priorizada a implantação de medidas sanitárias mais rígidas.

Os resultados da análise filogenética indicaram que no Estado de Mato Grosso, a raiva bovina é causada por diversas variantes do VR que não estão regionalmente bem definidas. Estes achados implicam que a distribuição das variantes está intimamente relacionada à movimentação dos morcegos hematófagos. Foi também observado que a distribuição do VR relacionado a morcegos hematófagos está relacionada à altitude, e sua transmissão parece ser mais prevalente em regiões de baixas altitudes e são limitadas pela distribuição de serras e montanhas. Estes achados sugerem que as características epidemiológicas da raiva bovina transmitida por morcegos hematófagos podem ser influenciadas por fatores topográficos e geográficos das regiões onde os rebanhos são mantidos, tanto quanto a aspectos relacionados a ecologia dos morcegos. Estes achados através do isolamento geográfico de variantes do VR contribuem para o conhecimento das características epidemiológicas do VR transmitido por morcegos hematófagos. Portanto, propõem-se que estes fatores sejam considerados na elaboração de programas e medidas de prevenção e controle por parte dos órgãos oficiais de defesa sanitária, na tentativa de atenuar a disseminação da raiva bovina transmitida por morcegos hematófagos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles communes al hombre y a los animales**. 2nd ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, p. 502-526, 1986.

ARELLANO-SOTA, C. Biology, ecology and control of the vampire bat. **Rev. Infect. Dis.**, v.10 (supl. 4), p. 615-619, 1988.

BOURHY, H.; SUREAU, P.; TORDO, N. From rabies to rabies-related viruses. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 23, p. 115-128, 1990.

BOURHY, H.; KISSI, B.; TORDO, N. Molecular diversity of the lyssavirus genus. **Virology**, Orlando, v. 194, p. 70-91, 1993.

FAVORETTO, S.R.; MATTOS, C.C.; CARRIERI, M.L. et al. Caracterização de variantes no Brasil e países vizinhos. In: **Seminário Internacional de Raiva**. São Paulo: Instituto Pasteur, p.59-61, 2000.

FERREIRA, J.C.V., **Mato Grosso e seus municípios**, 19 ed. Cuiabá: Secretaria de estado da Educação, 660 p., 2001.

GOULD, A. R.; HYATT, A. D.; LUNT, R.; KATTENBELT, J. A.; HENGSTBERGE, S.; BLACKSELL, S. D. Characterization of a novel lyssavirus isolated from Pteropid bats in Australia. **Virus Research**, v. 54, p.165-187, 1984.

HAAS, L. Molecular epidemiology of animal virus diseases. **J. Vet. Med.**, série B, v.44, p. 257-272, 1997.

ITO, M.; ITOU, T.; SAKAI, T.; SANTOS, M.F.C.; ARAI, Y.T.; TAKASAKI, T.; KURANE, I.; ITP, F.H. Detection of rabies virus RNA isolated from several species of animals in Brazil by RT-PCR. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokio, v.63, n.12, p.1309-1313, 2001b.

- ITO, M., YOHKO, T., ARAI, ITOU, T., SAKAI, T., ITO, F.H., TAKASAKI, T., KURANE, I., Genetic Characterization and geographic distribution of rabies virus isolates in Brazil: identification of two reservoirs, dogs and vampire bats. **Virology**, v.284, p.214-222, 2001a.
- KAPLAN, M. M.; KOPROWSKY, H. Rabies. **Scientific America**, v.242, n. 1, p. 104-113, 1980.
- KAPLAN, C.; TURNER, G. S.; WARREL, D. A. **Rabies: the facts**. 2<sup>nd</sup>. Ed. Oxford: University Press, 126 p., 1986.
- KOBAYASHI, Y.; SATO, G.; SHOJI, Y.; SATO, T.; ITOU, T.; CUNHA, E.M.; SAMARA, S.I.; CARVALHO, A.A.; NOCITI, D.P.; ITO, F.H.; SAKAI, T. **J. Vet. Med. Sci.** , v. 67, p. 647-652, 2005.
- KOBAYASHI, Y.; OGAWA, A.; SATO, G.; SATO, T.; ITOU, T.; SAMARA, S.I.; CARVALHO, A.A.; NOCITI, D.P.; ITO, F.H.; SAKAI, T., Geographical Distribution of Vampire Bat-related Cattle Rabies in Brazil, **J. Vet. Med. Sci.**, v. 68, p. 1097-1100, 2006.
- KOBAYASHI, Y.; SATO, G.; MOCHIZUKI, N.; HIRANO, S.; ITOU, T.; CARVALHO, A.A.B.; ALBAS, A.; SANTOS, H.P.; ITO, F.H.; SAKAI, T. Molecular and geographic analyses of vampire bat-transmitted cattle rabies in central Brazil. **B M C Veterinary Research**, v.4: 44, 2008.
- MCCOLL, K. A.; TORDO, N.; SETIÉN, A.A. Bat lyssavirus infections. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v.19, n.1, p.177-196, 2000.
- POUNDER, P. J. Rabies, lyssaviruses and bats. **Scott. Med. J.**, v.48, n.4, p.99-101, 2003.
- ROMIJIN, P.C., van der HEIDE, R.; CATTANEO, C.A.; SILVA, R.C. van der POEL, W.H., Study of lyssaviruses of bat origin as a source of rabies for other animal species in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** V.69, p. 81-86, 2003.
- RUPPRECHT, C. E.; STOHR, K.; MEREDITH, C. Rabies. In: WILLIAMS, E. S.; BARKER, I. K. **Infections diseases of wild mammals**. Iowa, Iowa State University Press, p.3-36, 2001.



SACRAMENTO, D.; BOURHY H.; TORDO, N. PCR Technique as an alternative method for diagnosis and molecular epidemiology of rabies virus. **Mol. Cell. Probes**, v.5, p.229-240, 1991.

SAITOU, N.; NEI, M. **Mol. Biol. Evol.**, v.4, p.406-425, 1987.

SMITH, J. S. New aspects of rabies with emphasis on epidemiology, diagnosis, and prevention of the disease in the United States. **Clinical Microbiology Review**, Washington, v. 9, n. 2, p. 166-176, 1996.

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

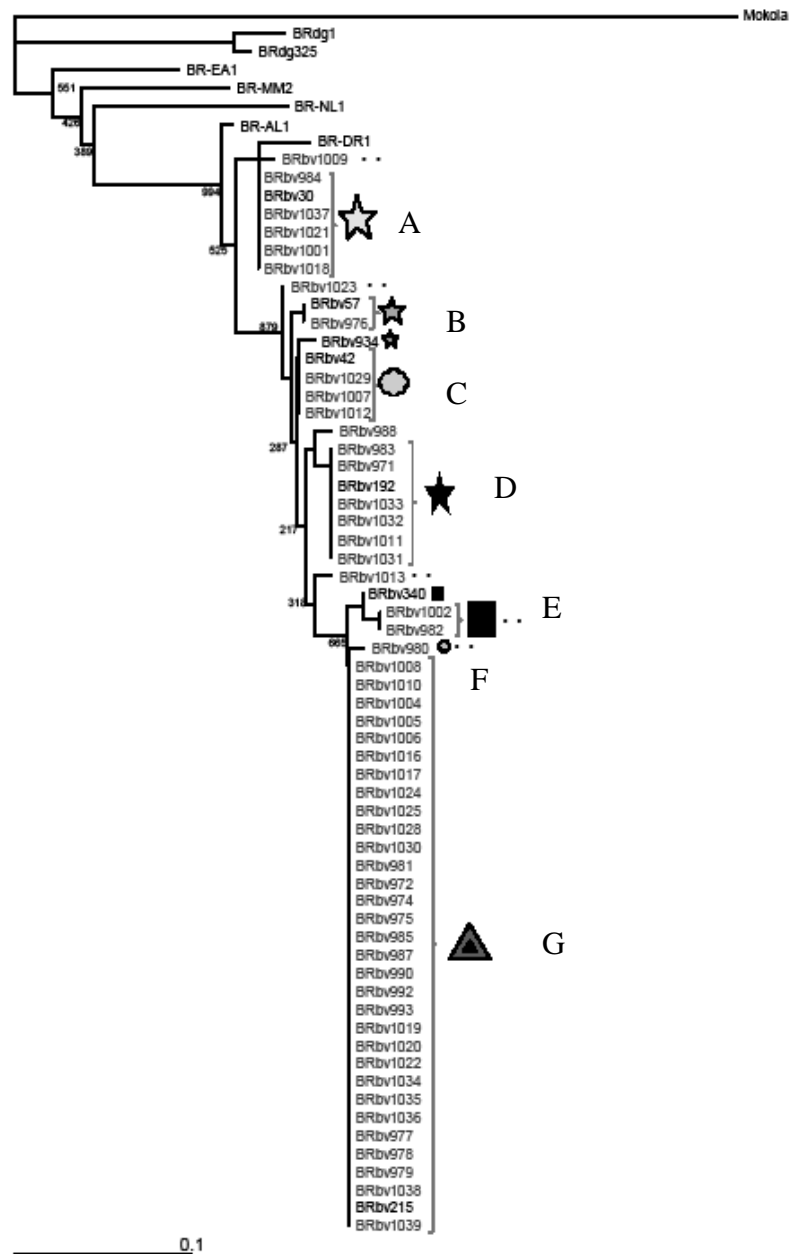
TORDO, N.; POCH, O. Structure of rabies virus. In: CAMPBELL, J. B.; CHARLTON, K. M. **Rabies**. Boston: Kluwer Academic Publishers, p. 25-45, 1988.

TORDO, N.; POCH, O. ERMINE, A.; GÉRARD, K. Primary structure of leader RNA and nucleoprotein genes of the rabies genome: segmented homology with VSV. **Nucleic Acids Research**, v. 14, n. 6, p.2671-2683, 1986.

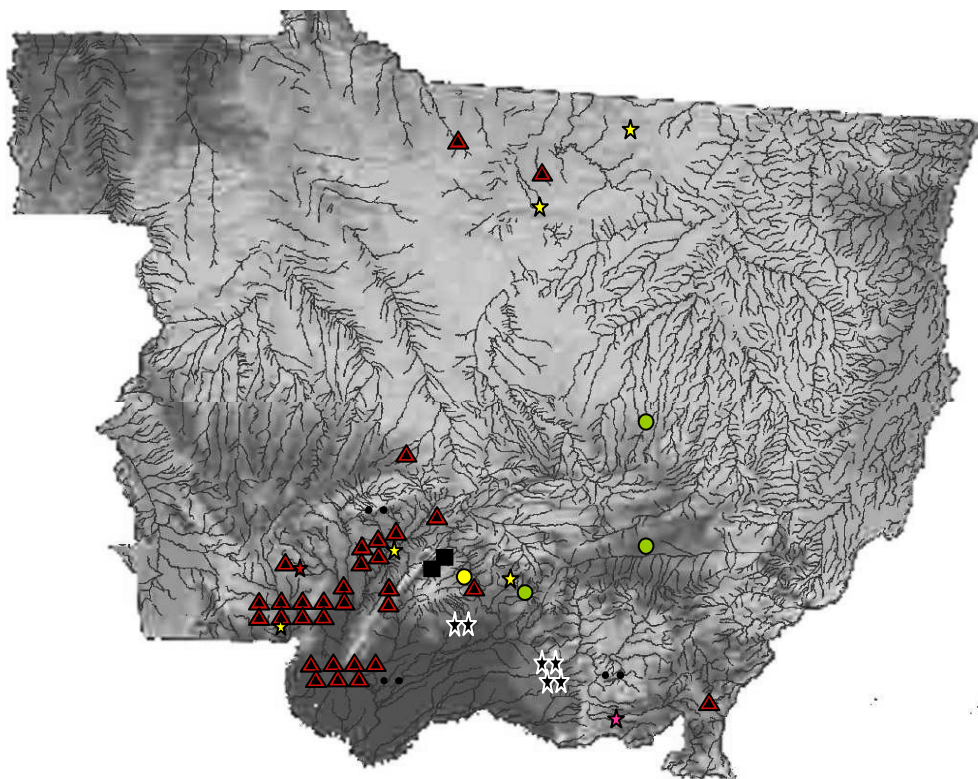
WUNNER, W. H. Rabies virus. In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W. H. **Rabies**, San Diego, Academic Press, p.23-77, 2002.

**Figura 1: Árvore filogenética baseada na seqüência parcial do gene N. O vírus Mokola foi usado como grupo externo. As amostras de VR isoladas neste trabalho estão indicadas em vermelho. As demais amostras são de artigos anteriores (KOBAYASHI et al. 2005; 2006).**

.. Novos grupos distinguidos a partir de 203 pb do gene N.



**Figura 2:** Distribuição geográfica das amostras isoladas de bovinos divididas em 7 subgrupos na análise filogenética. Os símbolos correspondem à figura 5. Os rios estão representados pelas linhas azuis. O mapa foi obtido através do site <http://www.relevobr.cnpm.embrapa.br/>.



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)