

**Universidade de São Paulo  
Faculdade de Saúde Pública**

**Cobertura e uso do solo e sua influência na ocorrência de  
raiva nos municípios de Jacareí e Santa Branca, Vale do  
Paraíba, Estado de São Paulo, entre 2002 e 2009.**

**João José de Freitas Ferrari**

**Dissertação apresentada ao programa de Pós-  
graduação em Saúde Pública da Faculdade de  
Saúde Pública da Universidade de São Paulo para  
obtenção do título de Mestre em Saúde Pública.**

**Área de concentração: Epidemiologia**

**Orientador: prof. Dr. Mauro Toledo Marrelli**

**São Paulo  
2010**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**Cobertura e uso do solo e sua influência na ocorrência de raiva nos municípios de Jacareí e Santa Branca, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, entre 2002 e 2009.**

**João José de Freitas Ferrari**

**Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública.**

**Área de concentração: Epidemiologia**

**Orientador: prof. Dr. Mauro Toledo Marrelli**

**São Paulo  
2010**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela força em todos os momentos.

À minha família: Idê, minha namorada, pelas orações e conselhos; Lucas pela assessoria em informática e Ana Maria pelo carinho. Amo vocês.

À minha amada mãezinha pelas orações e torcida.

Ao meu falecido pai, Prof. Dr. Orlando Ferrari, pelo exemplo de luta e persistência.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Mauro Toledo Marrelli, por ter me guiado com maestria até este almejado momento.

Ao Prof. Dr. Delsio Natal que acreditou que um profissional formado há mais de vinte anos ainda poderia voltar à vida acadêmica.

À Dra. Maria da Conceição Aparecida Macedo Souza que sempre me incentivou, ajudou e orientou em tudo, além de realizar provas laboratoriais.

Ao Instituto Pasteur de São Paulo, pela realização das provas laboratoriais, nas pessoas da Dra. Neide Yumie Takaoka, Dra. Ivanete Kotait e Dra. Maria Luiza Carrieri.

Ao Dr. Rafael Novaes Oliveira pela realização das provas laboratoriais e amizade.

Ao Dr. Pedro Carnielli Jr. pelos trabalhos científicos que gentilmente me cedeu para estudar.

A todos os pesquisadores do Laboratório de Biologia Molecular pelos ensinamentos e conselhos.

Ao Prof. Dr. Fumio Honma Ito pelos conselhos, amizade e colaboração prestados.

Ao Dr. Murilo Novaes Gomes, pelo apoio incondicional, pelas idéias brilhantes e, de forma especial, por ter me iniciado no trabalho com quirópteros.

Ao Dr. Marco Aurélio Barros por ter realizado com dedicação e profissionalismo ímpares, o trabalho de sensoriamento remoto.

Ao Prof. Dr. Wilson Uieda e Dra. Miriam Martos Sodré, pelos ensinamentos ministrados sobre quirópteros.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Urbinatti pela amizade sincera, pelos conselhos e coleguismo.

Ao Dr. Nilton Fidalgo Peres pelo material cedido e pela amizade.

Às Dras. Eliana e Elenice pelo apoio e amizade.

Aos meus queridos amigos de pós-graduação, pelos ensinamentos, pelo convívio alegre e harmonioso.

À minha amiga Carolina Terra pelos conselhos e correções realizadas na dissertação.

Aos meus mestres, representados pela Profa. Dra. Sabina Léa Davidson Gotlieb e Prof. Dr. Eliseu Alves Waldman, pelas aulas inesquecíveis e pela dedicação para com os alunos.

Aos meus amigos e companheiros de trabalho de campo, sempre feito com dedicação, profissionalismo e alegria: Eduardo, Juvenil e José Ferreira.

Aos funcionários da nossa Faculdade pela atenção e educação, em especial o Sr. João Batista de Carvalho.

À minha amiga Ana Cláudia Silveira da Silva, por ter me apresentado o Prof. Delsio.

A todos os profissionais do Laboratório de Entomologia pela convivência prazerosa.

Aos funcionários da Coordenadoria de Defesa Agropecuária pelo apoio nos trabalhos de campo e pelo fornecimento de dados.

Ferrari JJF. Cobertura e uso do solo e sua influência na ocorrência da raiva animal nos municípios de Jacareí e Santa Branca, Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, entre 2002 e 2009 [Dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP: 2010.

## RESUMO

**Objetivo:** Realizou-se um estudo, no período de 2002 a 2009, com a finalidade de verificar se as mudanças nas classes de cobertura da terra e no uso do solo podem exercer influência na ocorrência da raiva, nos municípios de Jacareí e de Santa Branca, situados na Região do Vale do Paraíba, no Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil. **Métodos:** A ferramenta utilizada para avaliar estas alterações foi o sensoriamento remoto, através de imagens de satélite Land-sat. Para pesquisar a presença do vírus da raiva (RABV) foram coletados animais silvestres atropelados nas rodovias, morcegos encontrados na área urbana em atitude suspeita, morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus* e animais de interesse econômico (ADIE) que vieram a óbito por enfermidade com sintomatologia nervosa. O material coletado, sistema nervoso central (SNC), desses animais foi encaminhado para o laboratório de referência nacional, o Instituto Pasteur de São Paulo (IP-SP) e para o Laboratório de Sanidade Animal da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA)- Pólo Regional do Vale Paraíba (PRDTA/VP) - Pindamonhangaba-SP. A determinação da presença do antígeno viral foi feita através da prova de imunofluorescência direta (IFD) e o isolamento do vírus através da inoculação intracerebral em camundongos (IC). Os inóculos das amostras foram submetidos à prova de reação em cadeia pela polimerase transcriptase reversa (RT-PCR) para verificar a presença do vírus da raiva. **Resultados:** No período de estudo tivemos a ocorrência de dez casos da doença, sendo três em morcegos insetívoros na zona urbana de Jacareí, e sete em ADIE, sendo dois, em Jacareí e cinco, em Santa Branca. Todos os animais silvestres terrestres examinados foram negativos para a presença do vírus da raiva em todas as provas realizadas (IFD, IC, RT-PCR). O material proveniente dos morcegos foi negativo para as provas de IFD e IC, porém três amostras, oriundas de morcegos insetívoros, resultaram positivas para a prova de RT-PCR. As amostras de ADIE examinadas resultaram positivas para todas as provas realizadas. O sequenciamento genético utilizou ampliações referentes à glicoproteína viral das 8 amostras positivas para rt-pcr, obtendo para os cinco isolados de ADIE linhagem de *desmodus rotundus* e para os três isolados de morcegos linhagens de *nyctinomops laticaudatus* e *tadarida brasiliensis*. Quando foi estudada a cobertura do

solo e seu uso, considerando os municípios, constatou-se que não haviam ocorrido mudanças significativas entre 2002 e 2009. Optou-se por fazer *buffers* de raio de 3 km tendo como centro de cada *buffer* as coordenadas geográficas de casos positivos para raiva. Como em duas situações houve sobreposição entre áreas de *buffers*, resolveu-se considerar a área da união dos mesmos. Foi interessante que, mesmo nestes *buffers* não houve mudanças significativas, apesar da ocorrência da doença. **Conclusão:** Na escala utilizada, considerada micro, a enfermidade aconteceu, mesmo sem mudanças aparentes na região. Provavelmente, em uma escala macro outros resultados poderiam ser obtidos.

**Descritores:** Sensoriamento remoto; Cobertura e uso do solo; Vírus da raiva; Animais silvestres; Animais de interesse econômico; *Buffers*.



Ferrari JJF. Influence of landscape and land use on the occurrence of rabies in the municipalities of Jacareí and Santa Branca, Vale do Paraíba, State of São Paulo, between 2002 and 2009 [Dissertation]. São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da Universidade De São Paulo; 2010.

## ABSTRACT

**Objective:** This study was carried out during the period of 2002-2009, with the purpose to verify whether the changes in types of land cover and in land use can influence the occurrence of rabies in Jacareí and Santa Branca, situated in the Vale do Paraíba, State of São Paulo, southeastern Brazil. **Methods:** The tool used to evaluate these alterations was the remote sensing through images of satellite land-sat. In order to search for the presence of rabies virus, brain materials were collected from wild animals roadkilled in highways, bats found in the urban area in suspicious attitude, *Desmodus rotundus* hematophagous bats captured in rural areas and farm animals of economic importance (aei) dead with suspect of rabies. For rabies diagnosis, specimens of central nervous system (cns) of these animals were sent to the Pasteur Institute of São Paulo (IP-SP) - national reference laboratory and to the laboratory of animal Paulista Agency for Agribusiness Technology (APTA) - Polo Valley Regional of Paraíba (PRDTA / VP), in Pindamonhangaba, state of SP. The presence of viral antigen was determined by the direct fluorescent antibody technique (D-FAT) and the isolation of the virus by means of intracerebral mouse inoculation test (MIT). The brain suspensions were submitted to reverse transcriptase. Polymerase chain reaction to check the presence of rabies virus. **Results:** In the period of study, 10 positive cases were detected, being 3 in insectivorous bats in the urban zone of Jacareí, and 7 in aei, being 2 in Jacareí and 5 in Santa Branca. All the terrestrial wild animals examined were negative for the presence of rabies virus in all tests performed (d-fat, mit, and rt-pcr). The materials from bats were found negative for the d-fat and mit, however, three samples originating from insectivorous bats turned out to be positive for rt-pcr. The positive samples from aei were positive for all tests carried out. The genetic sequencing of the G gene of eight rt-pcr positive rabies virus isolates derived from aei, five corresponded to the *Desmodus rotundus* lineage and the three bat isolates were related to lineages of *Nyctinomops laticaudatus* and *Tadarida brasiliensis*. When land coverage and its use were analyzed, considering the municipalities, it was found that no significant changes occurred between 2002 and 2009. Then buffers of 3 km in radius were chosen taking as the center of each buffer the geographical coordinates of positive rabies cases. Since in two situations there was

superposition between areas of buffers, it was resolved to consider the junction area of the buffers. Even in these buffers there was no significant change, despite the occurrence of the disease. **Conclusion:** it was concluded that the disease has occurred even without any apparent changes in the region, due to the (micro) scale used in this study. Probably, in a macro scale, other results might be obtained.

**Key words:** Remote sensing; Land cover and land use; Rabies virus; Wild animals; Farm animals of economic importance; Buffers.

## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
1.1.	Características moleculares do vírus.....	13
1.2.	Raiva no mundo.....	14
1.3.	Raiva no Brasil.....	17
1.4.	História da exploração do Vale do Paraíba.....	19
1.5.	Comportamento de <i>Desmodus rotundus</i> .....	22
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
3.1	Sensoriamento remoto.....	30
3.2	Coleta dos animais.....	36
3.3	Inoculação intracerebral em camundongos (ICC).....	38
3.4	Imunofluorescência direta (IFD).....	38
3.5	Reação de transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) para amplificação dos genes codificadores da nucleoproteína <i>n</i> e glicoproteína <i>g</i> virais.....	38
3.5.1	Extração de RNA.....	39
3.5.2.	Síntese de DNA Complementar (c-DNA) – Transcrição Reversa (RT).....	39
3.6.	Sequenciamento de DNA.....	40
3.6.1.	Purificação dos produtos de PCR.....	40
3.6.2.	Reação de sequenciamento de DNA.....	41
3.6.3.	Edição de sequências.....	41
3.7.	Análise filogenética.....	42
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>43</b>
4.1.	Sensoriamento remoto e geoprocessamento.....	43

4.1.1. Jacareí.....	43
4.1.1.1. <i>Buffer</i> Enio.....	44
4.1.1.2. <i>Buffer</i> Molossus.....	46
4.1.2. Santa Branca.....	47
4.1.2.1 <i>Buffer</i> Pedras.....	48
4.1.2.2. <i>Buffer</i> Votorantim.....	50
4.1.2.3. <i>Buffer</i> Serrote.....	51
4.2. Diagnóstico de raiva.....	53
4.3. Sequenciamento e análise filogenética.....	54
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>57</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>67</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>68</b>

## **APÊNDICE**

APÊNDICE 1- Apresentação dos resultados dos exames laboratoriais realizados em animais silvestres terrestres, aéreos e animais de interesse econômico, para diagnóstico de raiva, coletados no período de 2002-2009.....	79
--	----

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Mapa obtido através de imagem Landsat 5 ilustrando os padrões espectrais das diferentes classes.....	30
<b>Figura 2.</b> Vegetação nativa preservada, ao fundo, com pastagem à frente.....	31
<b>Figura 3.</b> Vegetação nativa com pequeno curral para manejo de animais.....	32
<b>Figura 4.</b> Pastagem com gado de corte. Ao fundo, reflorestamento, à esquerda e vegetação nativa, à direita.....	32
<b>Figura 5.</b> Reflorestamento com casa abandonada e, ao fundo, vegetação nativa.....	33
<b>Figura 6.</b> Área urbana, podendo-se observar ao fundo, à esquerda, vegetação nativa e à direita, reflorestamento.....	34
<b>Figura 7.</b> Mapa dos municípios de Jacareí, Santa Branca, Paraibuna e Salesópolis com os “ <i>buffers</i> ” estudados.....	35.
<b>Figura 8.</b> Distribuição percentual das classes de cobertura e uso da terra. Município de Jacareí, 2002, 2008 e 2009.....	44
<b>Figura 9.</b> Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Ênio, 2002, 2008 e 2009.....	45
<b>Figura 10.</b> Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Ênio, entre os anos de 2002 e 2009.....	45
<b>Figura 11.</b> Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Molossus, 2002, 2008 e 2009.....	46
<b>Figura 12.</b> Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Molossus, entre os anos de 2002 e 2009.....	47
<b>Figura 13.</b> Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. Município de Santa Branca, 2002, 2008 e 2009.....	48
<b>Figura 14.</b> Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Pedras, 2002, 2008 e 2009.....	49
<b>Figura 15.</b> Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Pedras, entre os anos de 2002 e 2009.....	49
<b>Figura 16.</b> Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Votorantim, 2002, 2008 e 2009.....	50

<b>Figura 17.</b> Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Votorantim, entre os anos de 2002 e 2009.....	51
<b>Figura 18.</b> Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Serrote, 2002, 2008 e 2009.....	52
<b>Figura 19.</b> Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. <i>Buffer</i> Votorantim, entre os anos de 2002 e 2009.....	52
<b>Figura 20.</b> Árvore de distância genética com algoritmo Neighbor-joining, modelo evolutivo MCL para 582 nt do gene <i>G</i> de RABV (nucleotídeos 3.360 ao 3.941).....	56

## Lista de Quadros

- Quadro 1.** *Primers* utilizados nas provas de RT-PCR e sequenciamento de DNA para os genes *G* e *N* das amostras de RABV isoladas de morcegos insetívoros no presente estudo. São Paulo, 2009.....38
- Quadro 2.** Ciclos de temperaturas utilizados no presente trabalho nas PCRs para os genes *G* e *N* do RABV em isolados de morcegos insetívoros. São Paulo, 2009.....40
- Quadro 3.** Resultado das provas de imunofluorescência direta (IFD), inoculação intracerebral (IC) e reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR), por categoria animal.....43
- Quadro 4.** Resultado das provas de imunofluorescência direta (IFD), inoculação intracerebral (IC) e reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) em animais silvestres aéreos, por família estudada.....54
- Quadro 5.** Amostras de RABV positivas para as reações de RT-PCR dirigidas para nucleoproteína *N*, glicoproteína *G*, sequenciamento e linhagem relacionada.....55

## Lista de abreviaturas e siglas

ADIE-	Animais de Interesse Econômico
APTA-	Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
c-DNA	DNA Complementar
CVS-	Controle Positivo
DNA-	Ácido Desoxirribonucléico
DNase-	Desoxirribonuclease
d-NTP-	Desoxinucleotídeos trifosfatos
GTA	Guias de Trânsito Animal
IBGE-	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC-	Inoculação Intracerebral
ICC-	Inoculação Intracerebral em Camundongos
IFD-	Imunofluorescência Direta
IP-SP-	Instituto Pasteur de São Paulo
MAPA-	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MCL-	
PCR-	Reação em Cadeia pela Polimerase
PRDTA/VP-	Polo Regional do Vale Paraíba
RABV-	Vírus da Raiva
RFFSA-	Rede Ferroviária Federal Sociedade Anônima
RNA-	Ácido Ribonucléico
RNase-	Ribonuclease
RT-PCR	Reação de transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase
SAA-	Secretaria Estadual da Agricultura e Abastecimento
SAAE-	Serviço Autônomo de Água e Esgoto
SIG-	Sistema de Informações Geográfica
SNC-	Sistema Nervoso Central
SP-	Estado de São Paulo
SR-	Sensoriamento Remoto



## 1. INTRODUÇÃO

A raiva é uma zoonose que afeta o sistema nervoso central, de evolução aguda e fatal, mantida em mamíferos e conhecida há milênios. Presente na América, Europa, África e Ásia, tem como agente etiológico um vírus RNA neurotrópico, pertencente à ordem *Mononegavirales*, família *Rhabdoviridae*, gênero *Lyssavirus* (FAUQUET et al., 2005). O vírus está, normalmente, presente na saliva, de modo que a transmissão, na maioria das vezes, ocorre por mordedura (ACHA e SZYFRES, 2003).

Dependendo da região, a doença pode ocorrer de forma distinta, em termos epidemiológicos, sendo o vírus albergado por diferentes hospedeiros (Ministério da Saúde, 2009). Atualmente considera-se que a raiva possui ciclos urbano, rural, silvestre aéreo e terrestre. A via aérea tem importância em certas áreas, principalmente em cavernas densamente povoadas por morcegos infectados (KAPLAN, 1985).

O homem, por meio do desenvolvimento das civilizações, vem interferindo intensamente no processo de conversão do habitat natural e, como consequência da expansão urbana e da formação de novos núcleos de moradia na zona rural, a degradação ambiental é cada vez mais acentuada, permitindo um maior contato do homem com os mamíferos silvestres. Questões econômicas, sociais, políticas, militares, desportivas e turísticas; substituição da vegetação por culturas e pastagens; construção de habitações, túneis, minas, fornos para carvão, galerias pluviais, usinas hidrelétricas; desvio de canais e rios e a introdução de fontes de alimento em grande escala tem transformado as paisagens e proporcionado uma das principais ameaças à biodiversidade em todo o mundo, trazendo conseqüências previsíveis e tornando a dinâmica de algumas populações diferente daquela prevista para sistemas naturais contínuos (PATZ et al., 2000). Desta forma, este panorama tem proporcionado a invasão temporal e permanente dos ecossistemas silvestres, com o aparecimento de novas fontes de alimento e o estabelecimento de novas populações (TADDEI, 1996). Ou seja, quando um determinado ecossistema é alterado, muitas de suas características se modificam e estudos relatam alterações na composição e abundância de espécies animais (SHAFER, 1990).

No mundo atual, cada vez mais tecnológico, em que o homem se afastou da natureza e está intensamente sujeito ao artificialismo construído por ele próprio, fatores antigos atuam de maneira diferente e surgem fatores novos. Estudos epidemiológicos são cada vez mais necessários, para acompanhar as transformações econômicas, ambientais e sociais e para verificar seus impactos sobre a qualidade de vida e sobre a saúde das populações (NATAL, 2004).

Instabilidades ecológicas originam-se das alterações dos ambientes físicos e biológicos, quando seus ocupantes, sejam eles animais, humanos ou microbianos, têm suas interações modificadas por intervenções que podem ser até mesmo higiênicas ou terapêuticas. Os desejos do homem foram usados para aumentar longevidade e diminuir mortalidade, o que simultaneamente introduziu irrevogáveis mudanças na demografia e na ecologia humana. Longevidade aumentada, produtividade econômica e outros fatores levaram à explosão da população global de aproximadamente 1,6 bilhão, em 1900, para cerca de 6 bilhões, em 2000. Esse aumento promoveu novas vulnerabilidades: superpopulação humana, com favelas lado a lado com condomínios luxuosos; a destruição das florestas para agricultura e submoradia, o que tem levado a um contato mais estreito entre o homem, roedores e carrapatos transmissores de patógenos (LEDERBERG, 2000).

Por décadas, o ambiente florestal tem sofrido intensas mudanças, devidas ao desflorestamento, à urbanização e ao desenvolvimento, como por exemplo, a construção de rodovias e usinas hidrelétricas. Estas mudanças ambientais têm tido um importante impacto na ecologia e uma forte influência no movimento de morcegos para áreas rurais e urbanas onde estão localizadas populações humanas e de animais domésticos (CONSTANTINE, 2003).

Os recentes surtos de raiva humana na região amazônica por morcegos hematófagos indicam uma intensa alteração do ambiente natural, que forçou os morcegos a migrarem para áreas urbanas e peri-urbanas à procura de novas fontes de alimento (TRAVASSOS DA ROSA et al., 2006).

É uma doença bem estabelecida, pois tem persistido ao longo do tempo e do espaço, atingindo uma distribuição mundial, em uma grande variedade de espécies de animais domésticos e silvestres, devido ao fato do vírus poder se transferir ("*spill over*") de um hospedeiro a outro, denominado de "*species-*

*jumping agent*", condição fundamental para ser classificado como agente de zoonose (CAREY, 1985).

Os animais, mais frequentemente, relatados como fonte de infecção aos seres humanos são os cães, enquanto que para os herbívoros são as raposas, morcegos e cães, mas o quadro é muito diferente em várias partes do mundo. Essas diferenças existem devido ao grande número de espécies capazes de atuarem como reservatórios da doença e das diversas formas que elas interagem em seu habitat (KAPLAN, 1985), podendo dentro de um determinado ecossistema, uma ou mais espécies de mamíferos se encarregar de perpetuar o vírus (PASTORET, 1989).

Para melhor entender o entrelaçamento destes ciclos emprega-se técnicas de biologia molecular (Tipificação antigênica com uso de anticorpos monoclonais, RT-PCR e Tipificação genética) (KOTAIT et al., 2009).

### **1.1. Características moleculares do vírus**

O vírus da raiva (RABV) possui envelope com espículas formadas pela glicoproteína G sendo o seu RNA genômico de fita simples, com polaridade negativa linear, não segmentado, com aproximadamente 12 kb (quilo bases). O RNA genômico possui cinco genes dispostos nesta ordem: N (1350 nucleotídeos-nt), P (891 nt), M (606 nt), G (1572 nt) e L (6426 nt), que transcrevem de forma monocistrônica as 5 proteínas estruturais do vírus que recebem as mesmas designações dos genes (FAUQUET et al., 2005).

O gene N da nucleoproteína N do RABV é o principal alvo para os estudos das suas relações filogenéticas, por ser a região gênica mais conservada, porém o gene G da glicoproteína G também é alvo de muitos estudos filogenéticos, principalmente pela importância da glicoproteína G na resposta imune, como também na relação entre hospedeiros susceptíveis e na patogênese da raiva (BADRANE et al., 2001).

## 1.2. Raiva no Mundo

No mundo são estimados 55.000 óbitos humanos por ano, transmitidos por cães, sendo 56% na Ásia e 44% na África; a maioria deles ocorre em áreas rurais (Ministério da Saúde, 2009). Na China, uma das maiores epidemias ocorreu na década de 80, com média de 5000 a 7000 casos por ano (ZHANG et al., 2003, 2005), levando na realidade, ao que pode ser considerada uma hiperendemia. Com a melhoria da qualidade dos serviços de saúde, disponibilizando tratamento profilático pós-exposição à população humana e o controle da população canina, houve queda substancial das ocorrências na década de 90, com apenas 159 casos relatados, em 1996 (ZHANG et al., 2005).

Apesar disto, ainda há muito que melhorar, pois a raiva humana é relatada sem diagnóstico laboratorial confirmatório em várias partes da China. Poucas estatísticas estão disponíveis sobre a raiva canina, mostrando que diagnóstico e sistema de vigilância para a raiva animal não funcionam a contento, gerando inconsistências nos relatos de raiva humana (ZHANG et al., 2006). Este país vem enfrentando nova onda da doença, como consequência do rápido desenvolvimento econômico, do rentável crescimento da indústria para pets domésticos e do aumento dos animais de companhia doméstica, em função do rigoroso planejamento familiar (WU et al., 2009).

Na Índia, aproximadamente 15 milhões de pessoas, marcadamente de classes sociais menos favorecidas, são mordidas anualmente, na sua maioria, por cães. Desde 1985, o país tem relatado de 25.000 a 30.000 mortes pela doença por ano (SUDARSHAN, 2004). Cães domésticos (*Canis familiares*) são hospedeiros da raiva em toda a África causando a maioria dos casos de raiva humana. O chacal listrado (*C. adustus*), o chacal preto (*C. mesomelas*) e a raposa orelha de morcego (*Otocyon megalotis*) também são hospedeiros embora seu papel não esteja totalmente esclarecido (BINGHAM et al., 1999).

Na Europa, a raiva canina urbana foi totalmente eliminada. O principal reservatório silvestre é a raposa vermelha (*Vulpes vulpes*), com esporádicos casos humanos registrados nos países europeus nas últimas décadas, especialmente, pela implementação sucessiva dos programas de vacinação oral

das raposas e a avançada profilaxia humana pós-exposição (BOURHY et al., 1999).

No Canadá, várias espécies silvestres, incluindo skunk (*Mephitis mephitis*) (PYBUS, 1988), raposa do ártico (*Alopex lagopus*), raposa vermelha (*Vulpes vulpes*) e algumas espécies de morcegos, mantêm cepas específicas localizadas geograficamente (NADIN-DAVIS et al., 2001). Neste mesmo país, também têm sido relatadas ocorrências de cepa de racoon (*Procyon lotor*) oriunda dos Estados Unidos. (WANDELER e SALSBERG, 1999).

As espécies silvestres são normalmente reservatórios primários da raiva nos Estados Unidos, contribuindo com mais de 90% do total das ocorrências entre 2000 e 2005 principalmente em racoons (*Procyon lotor*), skunk (*Mephitis mephitis*), raposa cinzenta (*Urocyon cinereo argenteus*), coiote (*Canis latrans*) e alguns morcegos insetívoros (BLANTON et al. 2007).

Entre 1990 e 1996 ocorreram 1372 casos de raiva humana na América Latina, porém, em apenas 1117 era conhecido o animal responsável, sendo 80,6% relacionados ao cão doméstico e 11,3% a morcegos, especialmente o vampiro (*Desmodus rotundus*) (PAHO, 1997). A população do vampiro comum parece estar em crescimento em várias partes da América Latina, provavelmente, como uma consequência da urbanização e de práticas agrícolas em áreas apropriadas para habitat destes animais, com inevitável e significativo aumento deste tipo de raiva, causando impactos na economia e na saúde pública (DELPIETRO e RUSSO, 1996).

No México, a raiva canina persistiu até os anos 90 e só recentemente trabalhos de controle conduzidos com sucesso levaram à diminuição da ocorrência da doença em cães e, conseqüentemente, no homem (VELAZQUEZ-MONROY et al., 2003). No entanto, apesar da raiva urbana ter sido controlada no país, relatos de raiva transmitida por animais silvestres terrestres, como *skunks*, tem crescido (LOZA-RUBIO et al., 1998; ARANDA e LOPEZ DE BUEN, 1999).

Mostrando que muitas vezes a ação do homem não traz os resultados almejados e, pior, gera situações indesejadas, NADIN-DAVIS et al., 2006 relatam que foram trazidas as pequenas mangostas indianas (*Herpestes auropunctatus*) para Cuba e Porto Rico com o intuito de controlar roedores nas

plantações de cana de açúcar. Além do insucesso no controle, e devido às suas altas taxas de reprodução e adaptabilidade, houve um aumento nas suas populações, gerando impacto ambiental em todas as áreas onde foram introduzidas. Em consequência disto, esta espécie emergiu como reservatório do vírus da raiva em Cuba, Granada, Porto Rico e República Dominicana.

Nos anos 80, na Argentina, a raiva canina urbana grassava, quando campanhas de vacinação reduziram as ocorrências nas províncias das regiões centrais e norte do país (AMASINO et al., 2002) mas o problema permaneceu nos pequenos povoados fronteiriços com a Bolívia (RABIA, 1999). A raiva transmitida pelo vampiro comum (*Desmodus rotundus*) afetou milhares de bovinos na Argentina, inclusive, provocando a morte de duas pessoas em 1997 e 2001 (DELPINETRO et al., 1997). Na Bolívia, 8 de 9 estados, relataram raiva humana e canina entre os anos de 1997 e 2001, sendo Santa Cruz, Cochabamba e La Paz os mais atingidos (MINISTÉRIO DE SALUD Y PREVISION SOCIAL, 2001, 2002).

Ocorreram na Colômbia, segundo o Instituto Nacional de Saúde deste país, 1139 casos de raiva urbana entre janeiro de 1992 e dezembro de 2006, sendo que 1088 ocorreram em cães e 51 em humanos. Destes casos, 93% estão agrupados em três regiões principais: Arauca (61), Região Central (248), Região Caribenha (753). Outros 77 casos estão distribuídos pelo restante do país. O surto da Região Central e de Arauca cessou em 1997, devido ao eficiente programa de eliminação da raiva, baseado na vacinação em massa da população canina. Na Região Caribenha, o surto permaneceu em curso com a ocorrência de cinco casos em cães e um caso humano, em 2006. A raiva silvestre ganhou relevância como problema de saúde pública devido à ocorrência de um caso na Região Central, onde pelo menos 17 indígenas foram atacados por morcegos hematófagos, no oeste do país (VALDERRAMA et al., 2006).

No Chile, o último caso humano transmitido por cão (*Canis familiares*) foi registrado em 1972 (FAVI e CATALAN, 1986). O morcego de cauda livre brasileiro (*Tadarida brasiliensis*) foi relacionado à morte de um menino de sete anos, em 1996, apesar de não ter havido histórico de exposição (FAVI e RAMIREZ, 1996).

### **1.3. Raiva no Brasil**

No Brasil, a raiva humana caracteriza-se por surtos epidêmicos, enquanto a raiva animal é endêmica, em grau diferenciado de acordo com a região geopolítica. No período de 1991 a 2007, foram notificados 1271 casos de raiva humana, sendo os cães responsáveis pela transmissão 75% dos casos, os morcegos por 12%, os felinos por 3% e os 10% restantes, por outras espécies. Vale salientar que, nos anos de 2004 e 2005, o morcego foi o principal responsável pelos casos de raiva humana, com 86,5% dos casos, passando pela primeira vez a superar os casos com transmissão canina, devido à ocorrência de surtos de raiva humana no Estado do Pará, na Região Norte, e no Estado do Maranhão, na Região Nordeste do país (Ministério da Saúde, 2009).

Tem havido relatos de ataques por morcegos hematófagos a povos indígenas, em comunidades ribeirinhas, garimpeiros e vilarejos agrícolas na Amazônia brasileira (SCHNEIDER, 1996; UIEDA et al., 2002).

Estudo realizado por QUEIROZ et al. (2009), no noroeste do Estado de São Paulo, no período de 1993 e 2007, revelou que em 10.579 amostras enviadas aos laboratórios da região para diagnóstico de raiva, mostrou positividade de 4,9%. O material originou-se de 42 municípios da região, sendo que em 23 deles (55%) houve, pelo menos, um caso de raiva. Dos casos confirmados, 67% ocorreram em cães, entre 1993 e 1997. As demais ocorrências positivas foram 16% em bovinos, 9,7% em morcegos, 4% em gatos e 3% de outros animais. Entre 1993 e 1997 ocorreu o ciclo urbano da doença, sendo o hospedeiro principal o cão, e entre 1998 e 2007, os ciclos aéreos e rurais, com predomínio da raiva em morcegos e bovinos. Dos morcegos positivos, 70% eram insetívoros e 30% frugívoros, não sendo diagnosticado nenhum caso em morcego hematófago.

Pesquisando a presença do vírus da raiva no litoral norte do Estado de São Paulo FAVORETTO et al. (2009) examinaram, através de Imunofluorescência direta (IFD) e inoculação intra cerebral (IC), 27 amostras de animais encontrados mortos ou atropelados em rodovias, no município de Bertioiga, sendo todas negativas para a raiva.

O primeiro caso de raiva parálitica em bovinos, registrado no Estado de São Paulo, ocorreu em 1935, no município de Ubatuba, litoral norte, gerando preocupação das autoridades de saúde animal e dos criadores da época, pois havia ameaça real da doença atingir o gado leiteiro importado da Europa, que era criado no Vale do Paraíba (PACE, 1943).

SUGAY e NILSSON, em 1966, pesquisaram o vírus da raiva em morcegos do Estado de São Paulo, durante um surto no vale do Rio Paraíba, especialmente nos municípios de Guararema, Santa Izabel, Santa Branca, Salesópolis e Mogi das Cruzes, região onde a enfermidade atingiu grande contingente de animais de interesse econômico (ADIE).

Os prejuízos decorrentes da raiva dos herbívoros, na América Latina, estão na ordem de 100 milhões de dólares. No Brasil, a estimativa mais recente indica prejuízos em torno de 25 milhões de dólares a cada ano, com a morte de 40.000 bovinos e perdas indiretas estimadas em torno de 32,5 milhões de dólares (KOTAIT, 2001).

A transmissão do RABV por morcegos hematófagos foi mencionada pela primeira vez no trabalho de CARINI (1911), que foi o primeiro pesquisador a descrever a raiva parálitica em bovinos nas Américas, no Estado de Santa Catarina, no Sul do Brasil. Outros animais silvestres terrestres, como o lobo guará, coiote, quati, cangambá, guaxinim e raposas já foram relatados positivos para raiva (BARROS et al., 1989; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2001; REDE INTERAGENCIAL DE INFORMAÇÃO PARA A SAÚDE, 2002).

No Brasil, WIKTOR e KOPROWSKI (1982), relataram a presença de dois principais reservatórios, o cão, que afeta diretamente o homem e os morcegos hematófagos, que transmitem o vírus, principalmente, para os herbívoros e mais raramente, para o homem. Segundo BELLOTO et al. (2005), nas Américas, pela primeira vez, em 20 anos, o número de casos humanos transmitidos por animais silvestres é maior que os casos humanos transmitidos por cães.

SUGAY e NILSSON (1966) mencionaram a ocorrência de raiva em grandes proporções no Vale do Paraíba, iniciada em 1960, e que se prolongou por vários anos seguidos. A região é uma área do Estado de São Paulo, aonde a



raiva animal vem ocorrendo, de forma endêmica, há décadas e as medidas adotadas para o seu controle, principalmente a imunização de animais com uso de vacina anti-rábica, não tem alcançado o êxito esperado a ponto de impedir os casos de infecção pelo vírus.

A região possui topografia que favorece a presença de animais silvestres, especialmente, o morcego da espécie *Desmodus rotundus*, o principal transmissor da raiva para os herbívoros. O Vale do Paraíba vem sofrendo grandes alterações topográficas no decorrer dos últimos anos, o que tem favorecido a migração destes animais para os centros urbanos e assim colocado em risco a saúde da população.

#### **1.4. História da exploração do Vale do Paraíba**

O Vale do Paraíba, no início do século XVII, era um imenso sertão de morraria coberto por vegetação atlântica, onde reinavam os índios Guainás, Puris, Guarulhos e Tamoios, os quais tinham ao seu dispor uma rica fauna composta por antas, capivaras, pacas, porcos do mato, veados, quatis, tatus, lagartos, jacarés, onças, macacos, perdizes, codornas, saracuras, frangos d'água, patos e marrecos. Nesta época chegaram as bandeiras, os sertanistas e as entradas oficiais objetivando alcançar as minas do outro lado da Serra da Mantiqueira. A ocupação desta região ocorreu quando moradores da Vila de Santos, dirigidos por Brás Cubas, subiram o Vale do Rio Quilombo e ergueram as edificações que formaram o povoado de Mogi das Cruzes, o qual em 1611, já era considerado Vila. Pouco adiante havia o aldeamento indígena de Nossa Senhora da Escada. Entre 1622 e 1624 foi erguido o aldeamento de Nossa Senhora da Ajuda de Itaquaquecetuba (WEIS e SANTOS, 1990).

O caminho percorrido pelos que partiam de São Paulo em direção ao Vale do Paraíba, passava por Itaquaquecetuba, Vila de Mogi das Cruzes, Jacareí, Taubaté, Pindamonhangaba, Guaratinguetá e Lorena. No Vale havia três pontos de partida em direção às Minas Gerais: de Jacareí, pelo passo do Buquira; de Tremembé, pelos Vales do Piraquaiá e Sapucaí e, de Lorena, pela garganta do Embaú e Passa-Vinte. Pelos idos de 1628 os desbravadores assentaram as suas roças de subsistência (milho, feijão e mandioca) às beiras

dos caminhos que ligavam o litoral e a serra. Também havia abóbora, inhame, cará, urucum, palmito doce ou amargo e guariroba. Para cozinhar era usada a gordura de porco, já que a carne de porco era mais consumida que a de gado. A dieta era enriquecida pela caça farta e pelos frutos abundantes que eram colhidos nas vegetações e no campo, como: jabuticabas, maracujás, araticuns, goiabas, pitangas, bananas, mamões, gravatás e pinhões. Tudo visava o próprio sustento, pois raramente passava algum aventureiro ou tropeiro, e não se pensava em comércio ou grandes plantações. Os índios, que prezavam sua liberdade, não se associavam na labuta da sobrevivência. Pequenas lavouras de cana, milho e algodão garantiam o açúcar, rapadura, garapa, fubá e o fio para tear. O candeeiro de barro era abastecido com gordura de porco ou óleo de mamona e seu pavio era de algodão torcido. Usava-se monjolo, moinho e tear manual. Também se fabricava a pólvora para as armas e rojões, com carvão de crindiúva, salitre e enxofre. Do chumbo derretido eram feitas as balas. Na segunda metade do século XVIII apareceu o arroz com mais abundância (WEIS e SANTOS, 1990).

Os primeiros povoadores brancos e mamelucos do Vale do Paraíba paulista saíam de São Paulo em direção a Mogi das Cruzes, Freguesia da Escada e Jacareí. A viagem da Freguesia da Escada a Jacareí era de canoa, de onde partiam para o sertão a pé ou a cavalo. Sugestivamente, o caminho de Mogi a Jacareí era chamado de “os sete pecados mortais” (WEIS e SANTOS, 1990).

Com a decadência da exploração do ouro nas gerais e a demanda de açúcar na Europa, apareceu o cultivo da cana no Vale. O progresso da economia açucareira incorporou os escravos negros na sua produção. O aumento do contingente humano trouxe consigo a varíola, muito temida por todos. No final do século XVIII praticava-se a variolação, quando jovens escravos negros eram conduzidos por um feitor e acompanhados por um barbeiro. As pessoas sofriam um arranhão no braço, onde era esfregado um pouco de pus, retirado dos braços dos escravos. Era a tentativa de breicar o avanço da doença epidêmica e mortal. Os indivíduos que fugissem, para não se submeter ao processo, eram caçados, vacinados à força e ainda pagavam pesada multa.

No Vale do Paraíba, a cultura canavieira teve menos importância que na região de Piracicaba. Por volta de 1755, a lavoura de trigo prosperava nas

várzeas de Jacareí. No início do século XIX, Jacareí exportava, pelos portos de São Sebastião e Santos, muito café e fumo. Por terra mandava porcos para outras províncias. Nesta época iniciou-se a navegação pelo Rio Paraíba entre a Freguesia da Escada (Guararema) e Cachoeira Paulista, por onde eram levadas tábuas, toucinho e cerâmica produzida pelos índios da Freguesia. Em Jacareí plantava-se algodão, criavam-se porcos e aumentava a cultura do café. Em 1813, o comércio incipiente das vilas girava em torno do algodão, açúcar, aguardente, tabaco, café, porcos e gado (WEIS e SANTOS, 1990).

Ainda em 1836, o Vale era coberto por extensa vegetação, mas a monocultura cafeeira já estava se instalando. Aprendeu-se então o modo de plantar, colher e beneficiar. Modificou-se a maneira de construir e morar. Dos inimigos do café, geada, seca, erosão, a última foi a pior. Em 1840, a monocultura está instalada, sendo o café o produto mais importante em termos sociais, econômicos e políticos. Com o surgimento da aristocracia do café, importou-se um contingente de escravos africanos. Modificou-se a constituição étnica a estratificação social, as vilas tornaram-se cidades, as igrejas foram embelezadas e construíram-se Santas Casas e Teatros. O Vale estava coberto pela preciosa rubiácea e dali saía por Parati e Angra dos Reis em torno de 10.000 sacas de café. Para atender a demanda, em 1875, vinda do Rio de Janeiro, chegava a Cachoeira Paulista e ferrovia. Em 1872, saiu de São Paulo, passando por Mogi das Cruzes, Jacareí, São José dos Campos, Caçapava, Taubaté, Pindamonhangaba, Guaratinguetá e Lorena até encontrar em Cachoeira Paulista com a estrada que vinha do Rio de Janeiro, no ano de 1877. O café antes transportado por mulas, para enfrentar o difícil relevo do Vale, passava para o trem (WEIS e SANTOS, 1990).

Com o tempo, o café trouxe, em 1890, o empobrecimento do solo, restando uma paisagem desoladora, com propriedades abandonadas, fazendas postas à venda e “cidades mortas” (WEIS e SANTOS, 1990). Pelos idos de 1920, vários fazendeiros iniciaram a exploração leiteira na região, sendo muitos deles vindos de Minas Gerais. Esta atividade fez com que os criadores se unissem para a formação de cooperativas que recebiam, beneficiavam e comercializavam o leite e seus derivados (CALDEIRA, 1932).

Outra atividade que se iniciou na região, em torno de 1930, foi a exploração de minerais como a mica ou malacacheta, usada como isolante. Com o fim da atividade, em 1960, muitas destas escavações passaram a ser moradia de morcegos e outros animais silvestres<sup>a</sup>. Os rebanhos eram na sua maioria de animais mestiços, mas por volta de 1960 algumas propriedades possuíam até animais importados (CALDEIRA 1932). Nesta década, a região foi assolada por surtos de raiva que provocaram a morte de muitos animais (SUGAY e NILSSON 1966). A pecuária leiteira foi progredindo, com o aprimoramento dos rebanhos, mas a enfermidade aparecia com certa periodicidade. A partir de 1986 ocorreu um grande surto que se iniciou em Bananal e se espalhou por todo o Vale. Em 1998, a raiva percorreu a Serra da Mantiqueira na divisa com Minas Gerais (TADDEI et al.: 1991).

A monocultura do eucalipto, no Vale do Paraíba, se intensificou ao longo dos anos 1990 e da primeira década deste século, com a expansão da silvicultura. Esta atividade conjuntamente com a introdução de reprodutores nelore, fez com que a pecuária leiteira fosse perdendo terreno, inclusive levando ao fechamento da Cooperativa de Laticínios do Alto do Paraíba, com sede em Jacareí e filial em Santa Branca. Como a pecuária tendeu a explorar animais de corte, o que exige menor emprego de mão de obra, passou a ser comum, as famílias saírem da zona rural para procurar emprego nas cidades, deixando muitas casas abandonadas nas antigas fazendas leiteiras. Estas moradias, sem habitantes humanos, transformaram-se em excelentes abrigos artificiais para morcegos, muitos deles hematófagos. Atualmente o Vale tem uma silvicultura em franca ascensão, alguns criadores de gado de corte e gado de leite<sup>b</sup>.

### **1.5. Comportamento de *Desmodus rotundus***

A raiva dos herbívoros ocorre na América Latina em função da presença de colônias do morcego vampiro comum, causando grandes prejuízos

---

<sup>a</sup> Comunicação pessoal de Sr. Américo de Oliveira, em 15/06/2010.

<sup>b</sup> Comunicação pessoal de Dr. Juarez Telles de Souza, em 17/06/2010.

econômicos e problemas de saúde pública, já que o herbívoro agredido pelo morcego pode ser fonte de infecção rábica para o ser humano ao manipular o animal doente sem as devidas precauções (KOTAIT et al., 1998).

*Desmodus rotundus* (GEOFFROY, 1810) é encontrado do norte do México até o norte da Argentina (GREENHALL et al., 1983; KOOPMAN, 1988). Este morcego possui um esqueleto extremamente adaptado para o seu particular hábito alimentar. Seu crânio é largo, guardando um cérebro com um neocortex mais desenvolvido que os outros quirópteros, assim como o cerebelo (STEPHAN e PIRLOT, 1970), pois seu tipo de alimentação especializada demanda uma boa capacidade integrativa do cérebro.

Baseado em fotografias rápidas e métodos eletromiográficos, ALTENBACH (1979) descreveu em detalhes seus movimentos durante locomoção terrestre. Geralmente, se desloca sobre o solo andando. Quando há necessidade corre ou pula, sendo que entre os pulos intercala pequenos vôos. É capaz de alçar vôo diretamente do solo, o que não é comum em todos os quirópteros, e depois de atingir sua velocidade de cruzeiro, seu vôo é reto e rápido. Segundo SUTHERS (1970), possui bom funcionamento da visão, do olfato e da audição. Possui um sistema digestivo dotado de um longo ceco para armazenar o sangue ingerido (HUXLEY, 1865), com um estômago muito vascularizado para fazer uma rápida absorção da água da sua refeição, já que 25% é excretado na primeira hora após o repasto (ROSENBAUM, 1970). Alimentam-se todas as noites, mas pode ficar até 2 a 3 dias sem ingerir sangue (GREENHALL, 1970). Geralmente, após gestação de sete meses, traz um único filhote, pesando de 5 a 7 gramas e seu desenvolvimento corporal se completa até os 5 meses (BURNS, 1972). Mama até 10 meses, pois a troca da alimentação de leite para sangue é lenta, sendo feita por regurgitação do sangue ingerido pela mãe na boca do filhote, a partir do segundo mês de vida. Apesar disto depois de quatro meses já acompanha a mãe e aprende a sugar diretamente da presa (SCHIMIDIT et al., 1980). Sua fonte de alimentação é, comumente, constituída do sangue de animais de interesse econômico e, ocasionalmente, o homem (GREENHALL, 1970).

De forma geral, as colônias possuem 50 a 100 elementos (GREENHALL et al. 1983), mas populações maiores podem ser encontradas,

especialmente, onde o controle da espécie é feito esporadicamente (UIEDA, 1996). Podem constituir colônias mistas, dividindo seus abrigos com os gêneros *Micronycteris*, *Glossophaga*, *Carolia*, *Sturnira*, *Saccopterys* e *Artibeus*, como as encontradas por TURNER (1975), na Costa Rica.

GOMES e UIEDA (2004) realizaram estudo no Estado de São Paulo, encontrando, em média, colônias com 130 indivíduos, na proporção de 8,5 adultos para cada jovem. A proporção sexual era de um macho para cada 1,37 fêmeas. A pesquisa destes autores reforçou resultados colhidos por (TADDEI et al., 1991, ALENCAR et al., 1994), os quais sugerem que esta espécie concentra os nascimentos nas épocas mais quentes e chuvosas.

As fêmeas são maiores em tamanho e envergadura, pela necessidade de suportar o aumento do seu peso durante a gestação e, depois de paridas, para carregarem seus filhotes, durante o vôo (RALLS, 1976). Vários pesquisadores (FLORES-CRESPO e ARELLANO-SOTA, 1991, TRAJANO, 1996) consideram o raio médio da ação noturna de *Desmodus rotundus* de 3 km ao redor dos abrigos.

Esta espécie pode gerar prejuízos econômicos de grande vulto para a pecuária, pela transmissão da raiva dos herbívoros (GREENHALL et al., 1983; ACHA e MÁLAGA-ALBA, 1988), já que a introdução de animais de interesse econômico como bovinos, cavalos e suínos contribuiu para aumentar suas populações nos últimos 300 anos (ALTRINGHAM, 1996). Em relação à saúde pública, há relatos de ataques a indígenas, ribeirinhos e garimpeiros na região amazônica, assim como no Nordeste do Brasil. (SCHNEIDER, 1996; GONÇALVES, SÁ-NETO, BRASIL, 2002).

TADDEI et al. (1991), sugeriram que *D. rotundus* preferia abrigar-se próximo aos grandes rios, no Estado de São Paulo, fato este que teria contribuído para a ocorrência de uma epidemia de raiva na década de 1980, de modo especial, nos municípios localizados nestas regiões. Esta idéia da localização das colônias próximas às bacias hidrográficas norteou os trabalhos oficiais da Coordenadoria de Defesa Agropecuária da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo no controle das populações por um bom tempo (PERES et al., 2001). Nesta tarefa os técnicos perceberam que distantes destas regiões também encontravam significativas populações de *D. rotundus* e animais de

interesse econômico espoliados. Este fato suscitou a necessidade de se idealizar um novo método para avaliar os locais mais prováveis de moradia deste morcego hematófago e, por conseguinte, as regiões com maior chance de ocorrência da raiva, em função de mordeduras alimentares.

GOMES (2009) realizou um trabalho inovador e interessante, onde de forma sucinta, diz que: O lugar faz a diferença. Entre outros condicionantes, o autor ressalta as características do efetivo bovino e a dinâmica dos tipos de uso e das classes de cobertura da terra, em cada região analisada. Lugares montanhosos e cobertos por florestas oferecem abrigos naturais e ambiente propício para *Desmodus rotundus* (TADDEI et al., 1991). Nas regiões mais planas, próximas às de maior altitude, geralmente, estão os efetivos bovinos, fonte de alimentação para os morcegos. Havendo abrigos, naturais e/ou artificiais, além de alimento abundante nas proximidades, os morcegos e, provavelmente, a doença estarão presentes caso não sejam tomadas atitudes preventivas (GOMES, 2009). Os tipos de uso do solo e as classes de cobertura (florestas, áreas urbanas, pastagens e plantações extensivas) dependendo da sua extensão, podem servir como fator de risco ou fator de proteção para epidemias de raiva. Em seu trabalho, fundamentado em geotecnologias e aspectos espaciais, GOMES (2009) melhor localizou a enfermidade em áreas de pastagem e com efetivo bovino e concluiu que as ações de controle e vigilância da raiva devem ser independentes da classificação geo-administrativa imposta, pois a fonte de infecção da doença vive em ambiente natural.

A presença de morcegos hematófagos é observada somente na América Latina e em alguns países do Caribe (ACHA e MÁLAGA-ALBA, 1988). A sua importância como transmissores da raiva humana é crescente, além das significativas perdas econômicas que causam à pecuária pela morte e pela espoliação dos animais atacados. A raiva dos herbívoros infringe perdas econômicas vultosas ao Brasil, sendo um dos países que mais sofre com a doença. É difícil saber o montante dos prejuízos, pois o próprio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) reconhece a ocorrência de subnotificação em decorrência de uma vigilância inadequada e da falta de consciência dos produtores que não notificam casos suspeitos (BRASIL, 2005).

O primeiro caso de raiva parálitica em bovinos, transmitida por *Desmodus rotundus*, relatado no Estado de São Paulo, ocorreu em Ubatuba, próximo ao Vale do Paraíba, no ano de 1935 (PACE, 1943). Já na década de 60 a doença alcançou o Vale do Paraíba, onde foi constatada a presença do vírus da raiva em morcegos hematófagos, especialmente nas regiões onde ocorreram grandes surtos, como Guararema, Santa Branca e Salesópolis (SUGAY e NILSSON, 1996).

A raiva foi relatada em mais de 50 espécies de morcegos não hematófagos na América Latina e em 41 espécies no Brasil, incluindo morcegos hematófagos, insetívoros, frugívoros e onívoros. Durante o período de 2000 a 2005, ocorreram 210 casos de raiva em herbívoros e 22 em morcegos, comprovados por diagnóstico laboratorial, na região do Vale do Paraíba.

Tendo em vista que as mudanças do ambiente que vêm ocorrendo na região, com a finalidade de exploração econômica possam estar se constituindo em um problema ecológico, e o crescimento urbano esteja proporcionando uma maior oferta de alimento e abrigos a estes animais favorecendo a transmissão do RABV, pesquisas poderiam sugerir e auxiliar nas tomadas de decisões, a fim de melhorar a qualidade de vida e o bem-estar físico e social de toda a população.

Com a finalidade de quantificar as possíveis mudanças ocorridas na cobertura do solo e no seu uso, na área de estudo, foi usado sensoriamento remoto, mais exatamente imagens de satélite LANDSAT-5.

Ultimamente, a prática de se manter animais silvestres como animais de estimação tem sido intensificada, em decorrência de fatores como uma propaganda favorável feita por parte da mídia, uma maior liberalidade legal e certamente, o interesse econômico. Entretanto esta prática pode ter importantes implicações ecológicas e sanitárias, e causar sérios riscos ao homem, cujo conhecimento é fundamental, no sentido de se prevenir maiores consequências.

Conjecturou-se que a ocupação desordenada da área rural, onde foi realizado o estudo, e o crescimento da zona urbana fariam com que o ser humano invadisse o habitat das espécies silvestres e que estes animais também invadissem a área urbana, em busca de condições de sobrevivência (abrigo, alimentação, etc.).



Esta situação possibilitaria um maior contato entre homem e animais, facilitando a veiculação de agentes causadores de inúmeras zoonoses, inclusive a Raiva.

A migração dos trabalhadores das fazendas de leite, as quais trocaram esta atividade pelo reflorestamento comercial, para a cidade, deixando como legado muitas casas abandonadas na zona rural, proporcionaria maior oferta de abrigo para *Desmodus rotundus*. A retirada do gado leiteiro, fonte de alimento para essa espécie, poderia em algumas localidades, possibilitar uma mudança na relação entre os morcegos, os bovinos e demais animais domésticos, podendo até mesmo transformar o ser humano em alternativa alimentar.

Infelizmente, informações sobre os fatores que influenciam a variação das taxas de transmissão entre hospedeiro e a população de patógenos não estão disponíveis e pode ser muito oneroso obtê-las, especialmente, para as doenças associadas à vida silvestre (PLOWRIGHT, 1988).

## **2. OBJETIVOS**

- ✓ Verificar as mudanças nas classes de cobertura e uso do solo nos municípios de Jacareí e Santa Branca no período de 2002 a 2009.
- ✓ Pesquisar a presença do RABV em material colhido de animais silvestres e animais de interesse econômico.
- ✓ Verificar as mudanças de cobertura e uso da terra na veiculação do RABV e possível aumento na ocorrência de casos da raiva.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo realizado é descritivo, e apresenta limitações, especialmente, no tocante aos animais silvestres, pois há um viés, quando se compara com pesquisas em animais domesticados, os quais são manejados diariamente pelo ser humano. As variáveis são as áreas das classes de cobertura do solo e as ocorrências de Raiva. A população estudada (**Apêndice 1**) é composta de ADIE, especialmente, bovinos e equinos que tenham apresentado sintomatologia nervosa que resultou em morte, animais silvestres terrestres, encontrados mortos atropelados nas rodovias da região estudada e animais silvestres aéreos (morcegos encontrados em atitude considerada sugestiva de doença). Considera-se suspeito de doença o morcego encontrado com dificuldade de vôo e orientação, exposto à luz solar ou fora de seu habitat natural. Todos os animais encontrados em adiantado estado de decomposição foram excluídos do estudo.

A região que foi objeto da pesquisa é composta pelos municípios de Jacareí e Santa Branca, situados no Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. Pequenas áreas dos municípios de Salesópolis e de Paraibuna, que fazem divisa com o município de Santa Branca, foram incluídas no estudo, pois foi feito o uso de “buffers”, de modo que parte dos “buffers” ultrapassou os limites geopolíticos.

Cada “buffer” foi construído tendo como centro um ponto localizado pelas coordenadas geográficas onde ocorreu um caso positivo para a Raiva. O raio do “buffer” foi definido como três quilômetros, baseando-se no raio de ação do morcego *Desmodus rotundus*.

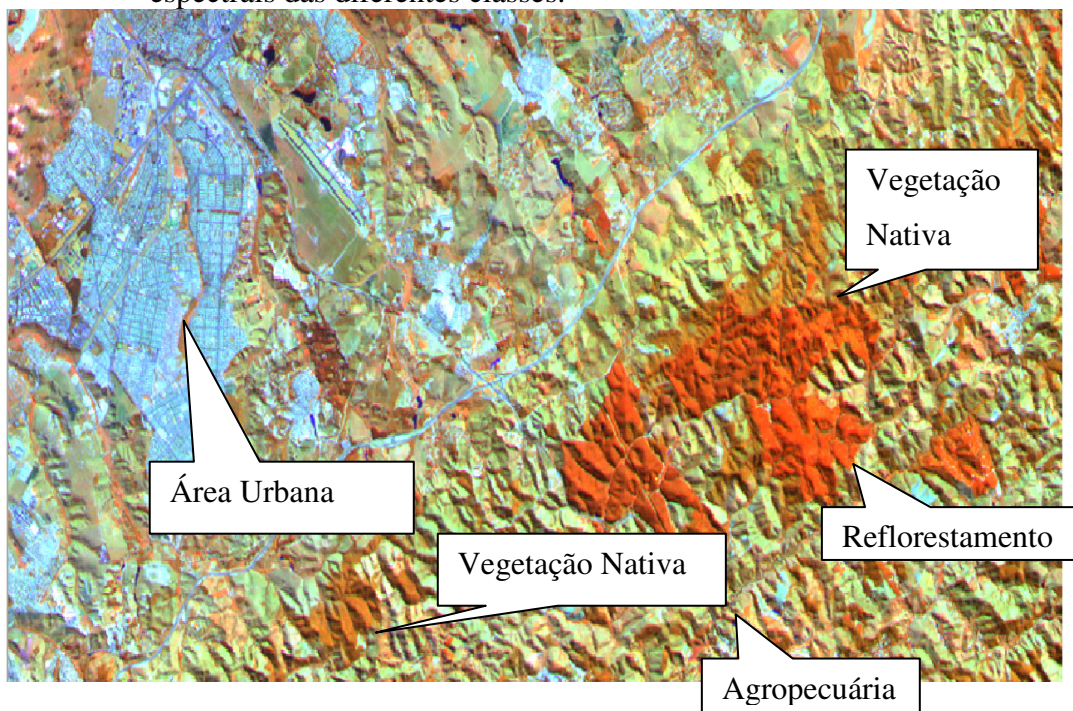
A área rural desta região teve seu auge econômico durante a exploração cafeeira. A seguir, a economia migrou para a pecuária leiteira. Nas áreas de solo mais arenoso do município de Santa Branca também houve exploração de mica, que ao ser deixada de lado, propiciou abrigos para animais silvestres em suas minas abandonadas. Nas duas últimas décadas, vem ocorrendo a substituição da pecuária leiteira pela silvicultura, de forma que muitas colônias de fazendas leiteiras foram desocupadas, propiciando inúmeros abrigos artificiais para os morcegos.

### 3.1. Sensoriamento Remoto

No contexto do trabalho, e com base nos estudos realizados por GOMES (2009), que integrou informações espaciais e estudos epidemiológicos relacionados à disseminação de raiva em bovinos oriunda de *Desmodus rotundus*, foram utilizadas imagens de satélite LANDSAT-5, com posterior classificação de imagens, para avaliar a cobertura e o uso da terra nos municípios de Jacareí e Santa Branca.

O levantamento nos municípios de Jacareí e Santa Branca seguiu a metodologia disponibilizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (1999). Foram utilizadas neste trabalho seis classes para caracterizar a cobertura e uso da terra dos municípios e “buffers”: agropecuária, vegetação nativa, hidro, reflorestamento, área urbana e agricultura. A **Figura 1** ilustra algumas classes de cobertura e uso da terra e os padrões espectrais na imagem de satélite.

**Figura 1.** Mapa obtido através de imagem Landsat 5 ilustrando os padrões espectrais das diferentes classes.



As **Figuras 2 a 6**, a seguir, mostram diferentes classes de cobertura e uso da terra na região estudada.

**Figura 2.** Vegetação nativa preservada, ao fundo, com pastagem à frente.



**Figura 3.** Vegetação nativa com pequeno curral para manejo de animais.



**Figura 4.** Pastagem com gado de corte. Ao fundo, reflorestamento, à esquerda e vegetação nativa, à direita.



**Figura 5.** Reflorestamento com casa abandonada e, ao fundo, vegetação nativa.



**Figura 6.** Área urbana, podendo-se observar ao fundo, à esquerda, vegetação nativa e à direita, reflorestamento.



A metodologia desenvolvida na pesquisa foi composta da estruturação do banco de dados geográficos, da elaboração da biblioteca espectral (**Figura 1**) e o processamento de imagens TM-Landsat-5 e da interpretação visual das imagens para a obtenção dos mapas temáticos em cada um dos municípios. O processo de interpretação de imagens seguiu alguns parâmetros técnicos:

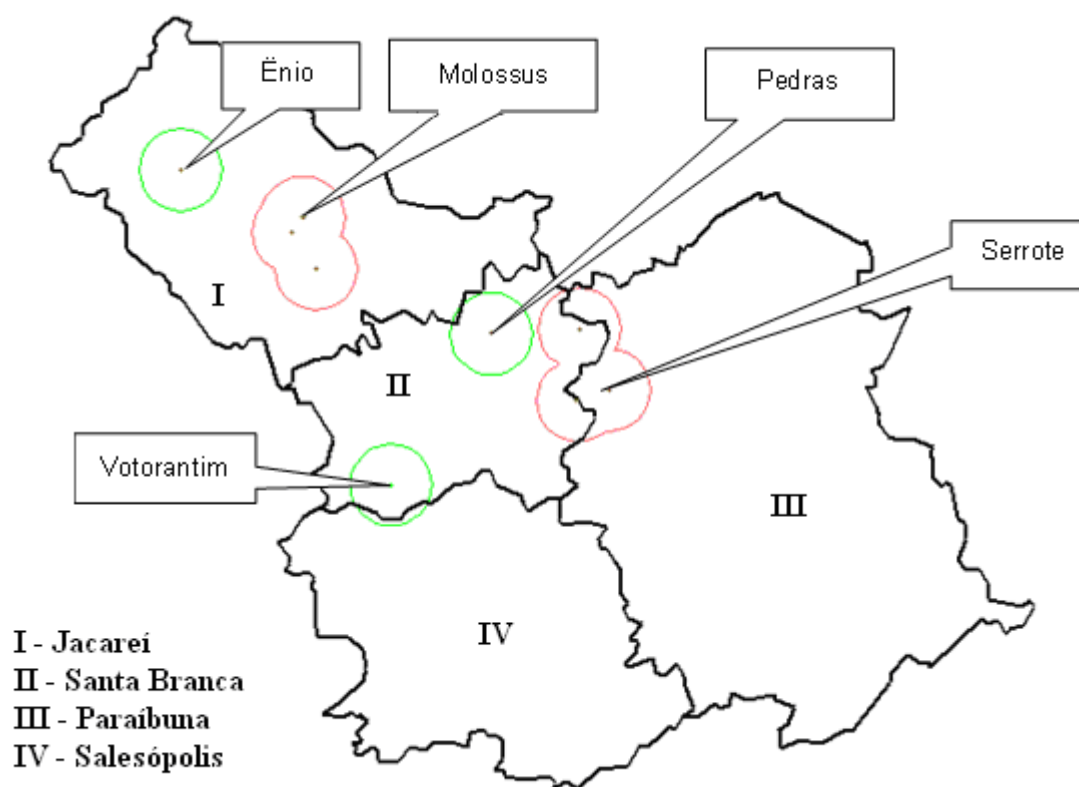
- escala (1:100.000)
- análise multitemporal 2002, 2008 e 2009

Para a análise envolvendo os casos registrados de raiva (**Quadro 5**), e os mapas de cobertura e uso da terra, trabalhou-se com unidades circulares (*buffers*) de três quilômetros de raio, com centro localizado pelas coordenadas de todas as ocorrências de raiva em campo, entre 2002 e 2009. A definição de três km baseou-se no raio de vôo noturno médio de *Desmodus rotundus* nas proximidades de seu abrigo (TRAJANO 1996; WILKINSON 1988), quando está a procura de animais para forragear e desenvolver suas atividades e interações sociais. Esta estratégia foi usada por GOMES et al. (2005) quando,



fazendo uso de sensoriamento remoto (SR) e sistemas de informação geográfica (SIG), contestou a teoria de que as epidemias de raiva aconteciam nas proximidades das grandes bacias pluviais do Estado de São Paulo (TADDEI et al. 1991), sugerindo novas maneiras de atuação para se prevenir a doença.

**Figura 7.** Mapa dos municípios de Jacareí, Santa Branca, Paraibuna e Salesópolis com os “buffers” estudados.



No município de Jacareí (**Figura 7, I**) há dois “buffer”, sendo o primeiro “buffer” denominado Ênio, onde morreu uma égua constatada positiva para raiva.

O segundo “buffer” denominado Molossus, teve como ponto inicial a Fazenda Reserva na periferia da cidade, onde foi confirmada a morte de uma vaca por raiva. Mais tarde, constatou-se a positividade de um morcego insetívoro (*Molossus rufus*) encontrado caído em uma residência no Jardim Dindinha, na cidade de Jacareí. Posteriormente encontrou-se um morcego insetívoro (*Molossus molossus*) caído na Biblioteca Municipal e outro

(*Molossus molossus*) em frente às dependências do Serviço Autônomo de Águas e Esgotos (SAAE) de Jacareí, na região central da cidade. Como havia sobreposição entre os “*buffers*” gerados por cada ponto onde se encontrou os animais positivos para a doença, optou-se por criar um “*buffer*” de maior extensão que abrangeu toda a área.

No município de Santa Branca (**Figura 7, II**) foram construídos três “*buffers*”. O primeiro, denominado Serrote, teve como ponto inicial a Fazenda Serrote, onde morreram dois eqüinos por raiva constatada por exames laboratoriais e mais cinco por diagnóstico presumível. A seguir ocorreu a morte de uma novilha na Fazenda Patizal, situada próxima à divisa dos municípios de Santa Branca e Paraibuna e, mais tarde, a morte de uma bezerra na Fazenda Caeté. No “*buffer*” Serrote também houve coincidência entre áreas geradas a partir dos locais de ocorrência da raiva, de forma que foi construído um “*buffer*” maior que contemplou a área geral. Parte desta área atingiu o município de Paraibuna (**Figura 7, III**).

O segundo “*buffer*”, denominado Pedras, teve como ponto central o Sítio das Pedras, onde morreu uma bezerra pela enfermidade. Uma pequena parte deste “*buffer*” alcançou o município de Jacareí (**Figura 7, I**).

O terceiro “*buffer*”, gerado no município de Santa Branca (**Figura 7, II**), originou-se do ponto situado na Fazenda Votorantim, onde morreu um cavalo por raiva. Parte deste “*buffer*” alcançou o município de Salesópolis (**Figura 7, IV**).

### 3.2. Técnicas de Coleta dos Animais

- ✓ Foram coletados animais silvestres atropelados encontrados mortos em rodovias da região.
- ✓ Foram coletados morcegos encontrados na área urbana, apresentando mudança de comportamento.
- ✓ Morcegos hematófagos da espécie *Desmodus rotundus* foram capturados em abrigos artificiais (casas abandonadas, fornos de carvão desativados, minas abandonadas, túneis coletores de água situados em baixo de rodovias, ferrovias, etc.) e em abrigos naturais como grutas de pedra.

O trabalho de captura foi realizado no interior do abrigo quando as condições de segurança permitiram. As saídas foram vedadas com panagens para evitar a fuga dos morcegos. A captura dos animais foi feita com auxílio de puçás, tomando-se o cuidado de acondicionar separadamente *Desmodus rotundus* de outras espécies, em gaiolas distintas.

Em abrigos muito estreitos ou onde existia a possibilidade de riscos, as redes de neblina foram armadas na sua saída ao entardecer, para realizar a captura dos morcegos com segurança.

Na impossibilidade de localização de abrigos, este trabalho foi realizado em capturas diretamente nos currais. Nesse caso, os animais de produção que estavam sendo atacados foram colocados em um curral durante três dias para servirem como isca. No quarto dia, ao entardecer, as redes de neblina foram armadas ao redor da instalação. Quando os morcegos hematófagos se aproximaram em busca de alimento, ficaram presos nas redes e imediatamente foram retirados manualmente com o auxílio de luvas e acondicionados em gaiolas seguindo a mesma orientação citada acima. Ao final das atividades as redes foram retiradas e os morcegos não hematófagos foram todos liberados. Os morcegos da espécie *Desmodus rotundus* foram tratados com dois gramas de pasta anticoagulante, cada um, a base de Warfarina e então liberados. Essas capturas foram realizadas durante período de lua minguante, quando estes animais possuem maior atividade durante a primeira fase da noite.

Foram colhidas amostras de cérebro, pulmão, coração, rim, fígado, testículo, baço, língua, glândula salivar e submaxilar dos animais silvestres incluindo gordura marrom dos morcegos. Os animais das diferentes espécies foram identificados taxonomicamente, acondicionados e enviados para o laboratório, para a realização das provas de diagnóstico, visando detectar a presença do RABV.

Animais de interesse econômico que apresentaram sintomatologia nervosa foram examinados e acompanhados. Quando vieram a óbito, o SNC foi coletado, embalado, refrigerado e enviado ao laboratório para pesquisa do RABV.

### 3.3. Inoculação Intracerebral em Camundongos (ICC)

A prova de Inoculação intracerebral foi realizada em camundongos com 0,03 mL de inóculos de diferentes tecidos de animais, que consistem em uma suspensão a 20% (p/v). Os animais inoculados foram observados por períodos variando de 21 a 30 dias, à procura de sinais de raiva, conforme a metodologia descrita por KOPROWSKI (1996).

### 3.4. Imunofluorescência Direta (IFD)

A prova de IFD seguiu a técnica preconizada originalmente por GOLDWASSER e KISSLING (1958) com ligeira modificação, descrita por DEAN et al. (1996).

### 3.5. Reação de transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR), para amplificação dos genes codificadores da nucleoproteína *N* e glicoproteína *G* virais

Amostras de SNC dos animais coletados foram submetidas à reação de RT-PCR para amplificação parcial dos genes *N* e *G* segundo protocolo descrito por CARNIELI (1999), com *primers* para nucleoproteína descritos por ORCIARI et al., (2001) e os *primers* para a glicoproteína viral descritos por SATO et al. (2004) (**Quadro 1**).

**Quadro 1.** *Primers* utilizados nas provas de RT-PCR e sequenciamento de DNA para os genes *G* e *N* das amostras de RABV isoladas de morcegos insetívoros no presente estudo. São Paulo, 2009.

Primers	Sentido	Sequência	Gene	Posição na amostra PV
21g	senso	5' ATGTAACACCTCTACAATG 3'	N	55-73
304	anti-senso	5'TTGACGAAGATCTTGCTCAT 3'	N	1514-1533
Ga3222-4	senso	5'CGCTGCATTTTRTCARAGT 3'	G	3221-3229
Gb4119-39	anti-senso	5'GGAGGGCACCATTTGGTMTTC 3'	G	4116-4135

Como controles foram inseridos desde a fase de extração do RNA até a amplificação suspensão de cérebros de camundongos inoculados com a amostra CVS (controle positivo) e água ultra-pura livre de DNase e RNase (controle negativo).

### **3.5.1. Extração de RNA total do SNC dos camundongos, controles positivo e negativo**

A extração de RNA total do SNC dos camundongos, controles positivo e negativo foi realizada com o método do Trizol (Invitrogen™) seguindo-se as instruções do fabricante.

### **3.5.2. Síntese de DNA complementar (c-DNA)-Transcrição Reversa (RT)**

Para cada amostra, adicionou-se 5µL do RNA extraído ao *mix* para a transcrição reversa contendo 8µL 5X *First Strand Buffer* (Invitrogen™), 6µL do pool de dNTPs na concentração de 10mM, 4µL DTT a 100mM, 5µL de cada *primer* na concentração de 10 µM (21g e 304 para o gene *N* e Ga3222-4 e Gb 4119-39 para o gene *G* (**Quadro 1**) e 200U de Superscript™ II *Reverse Transcriptase* (Invitrogen™), 1µL de RNAsin (Invitrogen™) e 12µL de água ultra-pura livre de DNase e RNase esterilizada para um volume final de 47µL, realizando-se a transcrição reversa a 42°C/60 minutos.

Após a obtenção do DNA complementar foi realizada a reação de PCR pela adição para cada amostra de 10µL de cada c-DNA ao *mix* de PCR contendo 10µL de 10X PCR Buffer (Invitrogen™), 16µL do pool de dNTPs a 1,25 mM, 5µL de cada primer a 10 µM (21g e 304 para gene *N* e Ga3222-4 e Gb4119-39 para o gene *G*, (Quadro 1), 1,5mM MgCl<sub>2</sub>, 50,5µL água ultra-pura esterilizada e 1,25U de Taq DNA polimerase (Invitrogen™) para um volume final de 102µL e levados ao termociclador e submetidos ao ciclo descrito no **Quadro 2**.

**Quadro 2.** Ciclos de temperaturas utilizados no presente trabalho nas PCRs para os genes *G* e *N* do RABV em isolados de morcegos insetívoros. São Paulo, 2009.

<b>Ciclo</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>
1	94° C Denaturação	5 minutos
35	94° C Denaturação	45 segundos
35	55° C Anelamento	45 segundos
35	72° C Extensão	2 minutos
1	72° C Extensão	10 minutos

Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE 1X (0,1 M de Tris, 0,09 M de ácido bórico e 0,001 M de EDTA), contendo brometo de etídeo na proporção de 7µL para cada 100ml de tampão.

Foram considerados positivos os isolados que resultaram em fragmentos de 1478 e 915 pares de bases (pb) para os genes *N* e *G*, respectivamente.

### **3.6. Sequenciamento de DNA**

Para a realização da técnica de sequenciamento de DNA foram realizados os seguintes protocolos:

#### **3.6.1. Purificação dos produtos de PCR**

A purificação dos produtos de PCR foi realizada utilizando-se o *kit* QIAquick® Gel Extraction Kit, segundo instruções do fabricante diretamente a partir das reações de PCR.

As reações que apresentaram bandas inespecíficas foram purificadas a partir do gel com o mesmo *kit*, segundo as instruções do fabricante.

Após a purificação, as amostras de DNA foram quantificadas visualmente em gel de agarose a 2% com Low Mass DNA Ladder (Invitrogen™), segundo as instruções do fabricante.

### 3.6.2. Reação de sequenciamento de DNA

A reação de sequenciamento de DNA consistiu em 4 µL de BigDye 3.1 (Applied Biosystems™), 3,2 pmoles de cada primer senso e antisense, referentes a cada gene em reações separadas, entre 30 a 60 ng do DNA alvo (entre 10 e 40 ng para o gene *N* e 5 a 20 ng para o gene *G*) e água DNase free q.s.p. para uma reação final de 10 µL, levando-se ao termociclador Mastercycler Gradient (Eppendorf ) para 35 ciclos de 96 °C/10 segundos, 50 °C/5 segundos e 60°C/4 minutos, com rampa de 1°C/segundo entre cada temperatura.

A purificação da reação de sequenciamento foi realizada por Sephadex™ G-50 fine(GE healthcare Bio-sciences), em placas com filtro Multiscreen HV com 96 orifícios. Após a purificação, as sequências foram obtidas em analisador genético automático ABI-3130 (Applied Biosystems™).

### 3.6.3. Edição de sequências

Para cada um dos nucleotídeos mostrados nos eletroferogramas gerados, para cada uma das reações de sequenciamento, foram atribuídos escores através do aplicativo Phred<sup>c</sup> on line em <http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/>, sendo utilizadas as posições que apresentaram nucleotídeos com índice Phred maior que 20 (EWING, GREEN, 1998).

Os nucleotídeos com índice Phred igual ou menor a 20 foram conferidos manualmente com o programa Chromas v. 2.23 (© 1998-2002 Technelysium Pty LTD), para a busca por erros de interpretação e discrepâncias entre cada uma das fitas seqüenciadas. A seqüência final de cada amostra foi obtida com o

---

<sup>c</sup> Phred Aplicativo disponível em:

<<http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/>>. Acesso em: 2008.

<sup>2</sup> BLAST Aplicativo disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>>.

aplicativo Cap-Contig com o programa Bioedit v. 5.0.9 (HALL, 1999), sendo a mesma submetida ao BLASTn<sup>d</sup> para confirmação do sequenciamento.

### **3.7. Análise filogenética**

Para a construção das árvores filogenéticas, as sequências de DNA da glicoproteína G de 8 amostras positivas pelo RT-PCR foram alinhadas utilizando o método de alinhamento múltiplo CLUSTAL/W e o programa Bioedit (HALL, 1999), conferindo-se manualmente os alinhamentos para cada conjunto de sequências alinhadas.

Estas sequências foram comparadas com sequências da mesma glicoproteína obtidas no GenBank, através dos números de acesso: GU552832, GU552831, GU552833, GU552835, GU552834, GU552846, GU552842, GU552843, GU552845, GU552844, AB449217, GU552847, AB449216, AB449215, GU552851, GU552850, GU552849, GU552865, GU552863, GU552861, GU552862, GU552860, EU293116, GU552866, GU552867, GU552868, GU552869, EF203429, EF203428, GU552872, GU552870, AB449210, AB496705, AB496703, AB496704, AB496702, EU918623, EU918629, EU918628, EU918625, EU918624.

Para a reconstrução filogenética das amostras de RABV, foi utilizado o método de distância com o algoritmo Neighbor-Joining com o modelo evolutivo Kimura 2 parâmetros através do software MEGA 4.1 (© 1993 – 2008 TAMURA et al.) com 1000 repetições de bootstrap.



## 4. RESULTADOS

### 4.1. Sensoriamento Remoto e Geoprocessamento

Os resultados de sensoriamento remoto e geoprocessamento serviram para subsidiar as análises dos casos de raiva (**Quadro 3**) no interior dos municípios e nos *buffers* que indicam as áreas de influência dos morcegos e são divididos em duas partes: 1) análise em escala municipal e 2) análise no interior dos cinco *buffers*, entre 2002 e 2009.

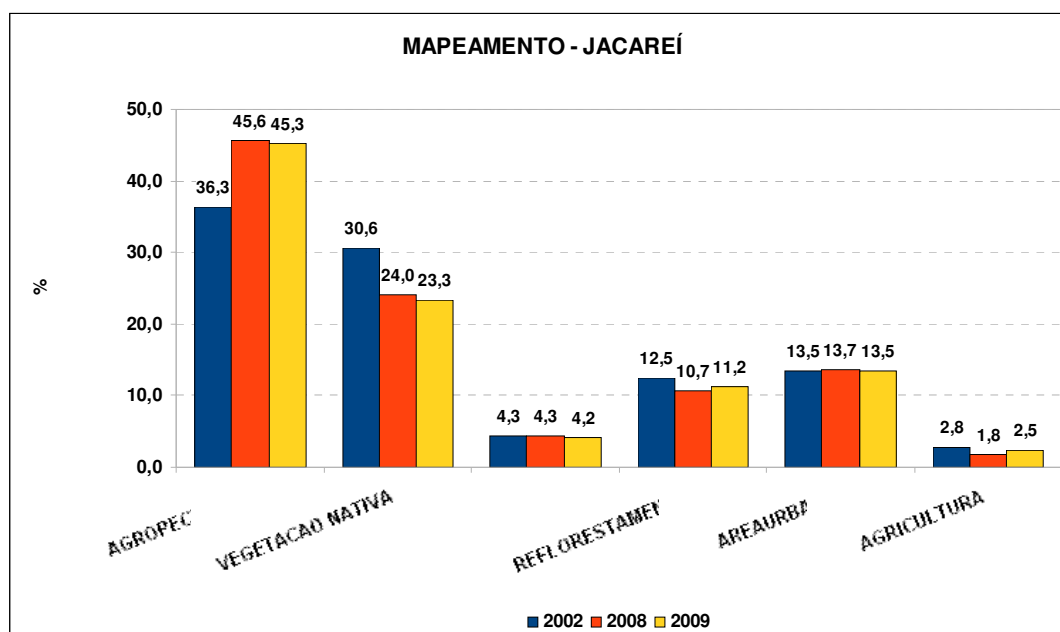
**Quadro 3.** Resultado das provas de imunofluorescência direta (IFD), inoculação intra-cerebral (IC) e reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR), por categoria animal.

<b>Categoria animal</b>	<b>Nº</b>	<b>Positivos IFD/IC</b>	<b>Positivos RT-PCR</b>
Silv. Terrestres	14	-	-
Silv. Aéreos	88	-	3
ADIE	5	5	5
Total	107	5	8

#### 4.1.1. Jacareí

O município de Jacareí possui área de 45.964,89 ha. Através do uso de geoprocessamento foi possível mostrar variações, explicitadas no gráfico abaixo (**Figura 8**). Na classe agropecuária houve aumento, passando de 36,3%, em 2002, para 45,3%, em 2009. No mesmo período, a área de vegetação nativa reduziu-se de 30,6% para 23,3%. Neste município foram estudados dois *buffers*, intitulados Ênio e Molossus.

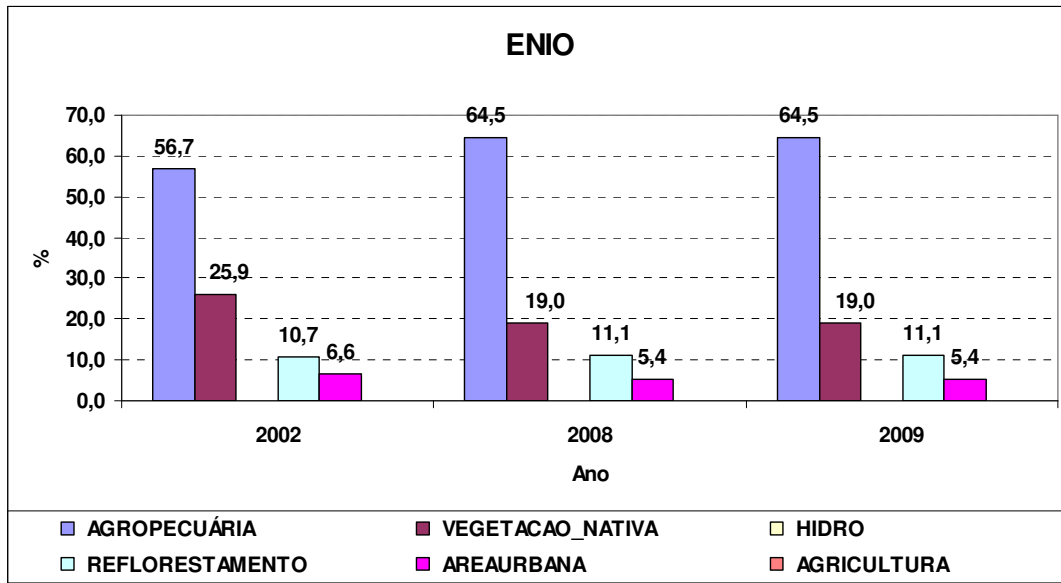
**Figura 8.** Distribuição porcentual das classes de cobertura e uso da terra. Município de Jacareí, 2002, 2008 e 2009.



#### 4.1.1.1. Buffer Ênio

Este *buffer* possui área de 2.830,77 ha. Através de geoprocessamento, constatou-se uma variação na agropecuária de 56,7%, em 2002, para 64,5%, em 2009. A vegetação nativa foi reduzida de 25,9% para 19%, no período de 2002 a 2009. A área urbana diminuiu de 6,6% para 5,4%, o que pode ser explicado pelo total abandono a que foi submetida a Fazenda-Escola Cooper-Rural no ano de 2005 (**Figuras 9 e 10**).

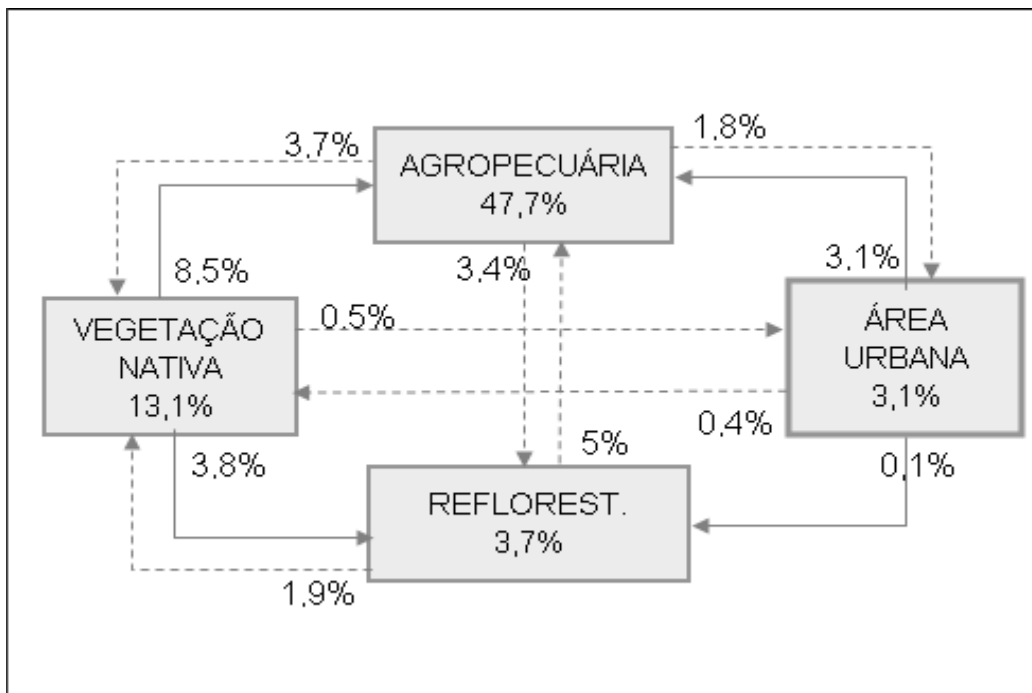
**Figura 9.** Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. *Buffer Ênio, 2002, 2008 e 2009.*



\* Não foram detectadas as classes agricultura e hidro neste *buffer*.

Outro modo de mostrar estas mudanças é através da conversão entre as classes de cobertura e uso da terra (**Figura 10**), que representa as transformações ocorridas entre as diferentes classes durante o período.

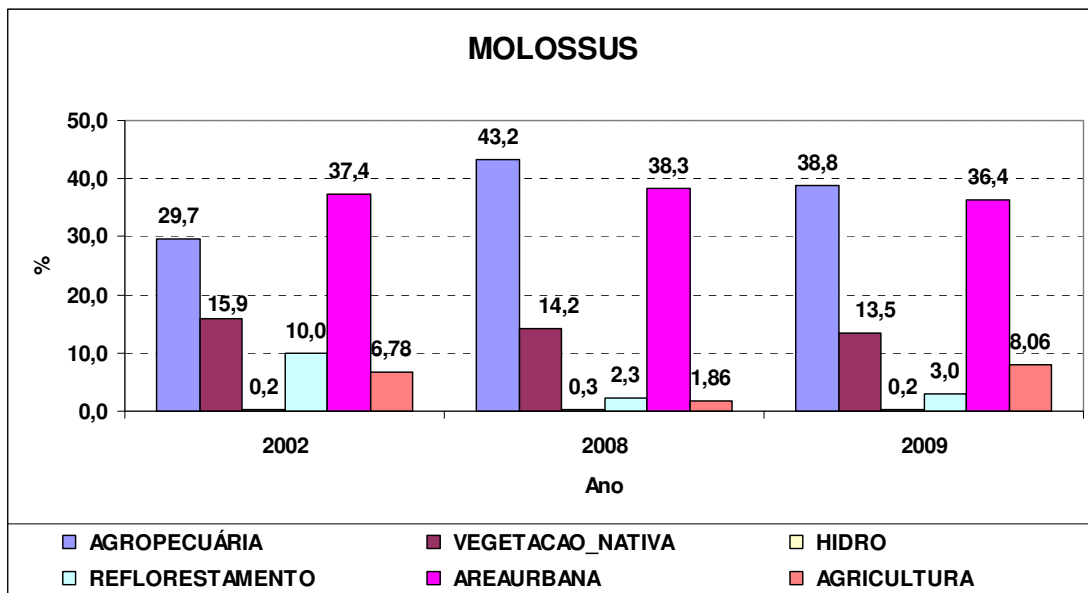
**Figura 10.** Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. *Buffer Ênio, entre os anos de 2002 e 2009.*



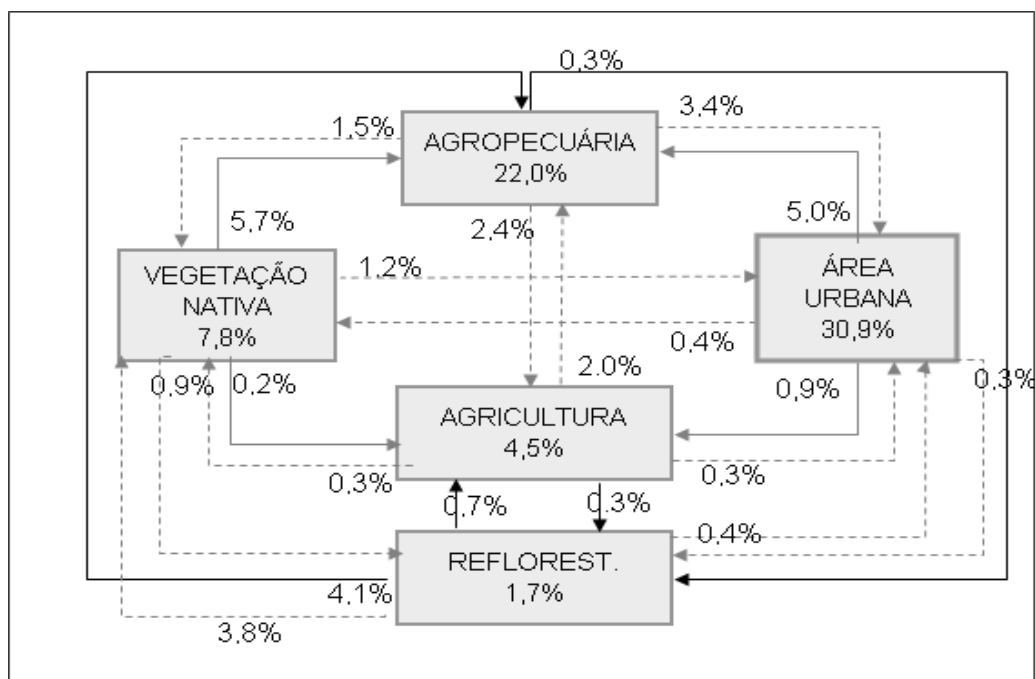
#### 4.1.1.2. Buffer Molossus

Pelo fato de ter ocorrido justaposição entre 3 *buffers* gerados a partir de três pontos distintos, este *buffer* possui área de 5.401,98 ha. As imagens mostraram variação de 29,7%, em 2002, para 38,8%, em 2009, na classe agropecuária. Nos mesmos anos, a vegetação nativa variou de 15,9% para 13,5% e o reflorestamento passou de 10% para 3% (**Figuras 11 e 12**).

**Figura 11.** Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. *Buffer* Molossus, 2002, 2008 e 2009.



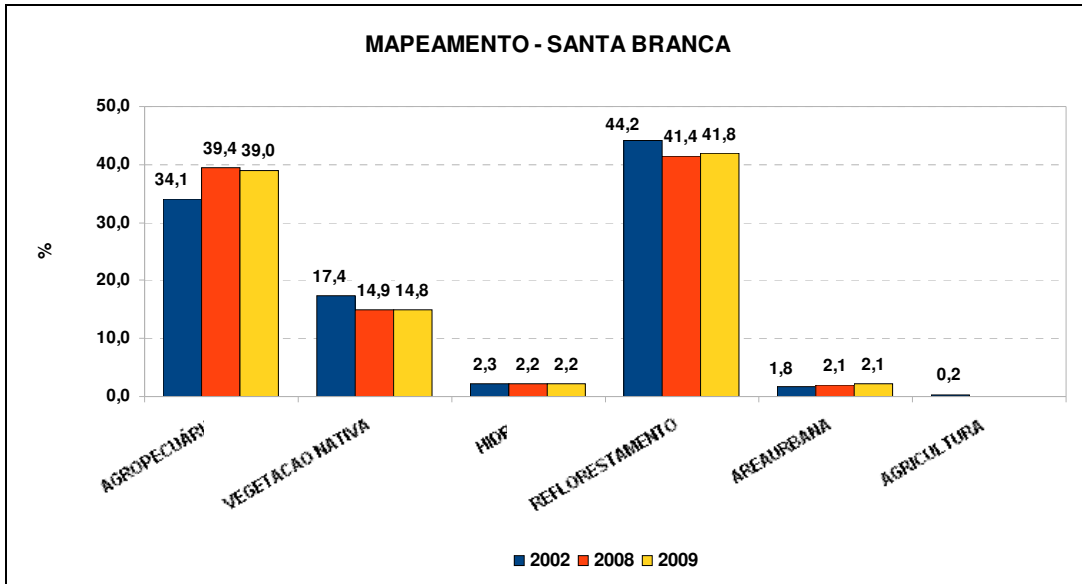
**Figura 12.** Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. *Buffer* Molossus, entre os anos de 2002 e 2009.



#### 4.1.2. Santa Branca

O município de Santa Branca possui área de 27.474,57 ha. As imagens mostraram uma variação na agropecuária de 34,1%, em 2002, para 39,0%, em 2009. A área de vegetação nativa reduziu-se de 17,4% para 14,8%. A área de reflorestamento passou de 44,2% para 41,8% (**Figura 13**). Neste município foram gerados três “*buffers*”, denominados: Serrote, Votorantim e Pedras.

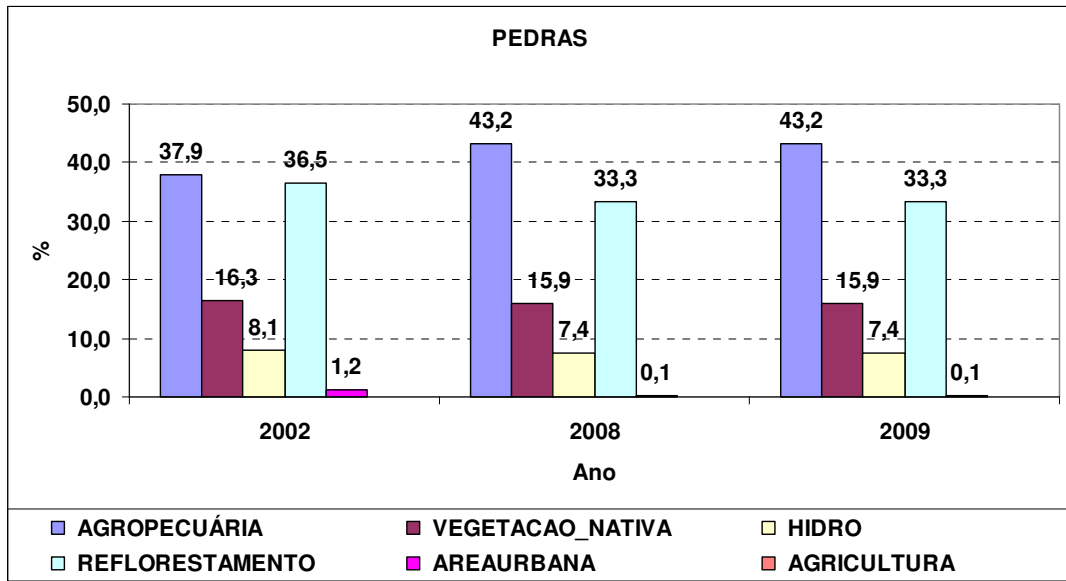
**Figura13.** Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. Município de Santa Branca, 2002, 2008 e 2009.



#### 4.1.2.1. Buffer Pedras

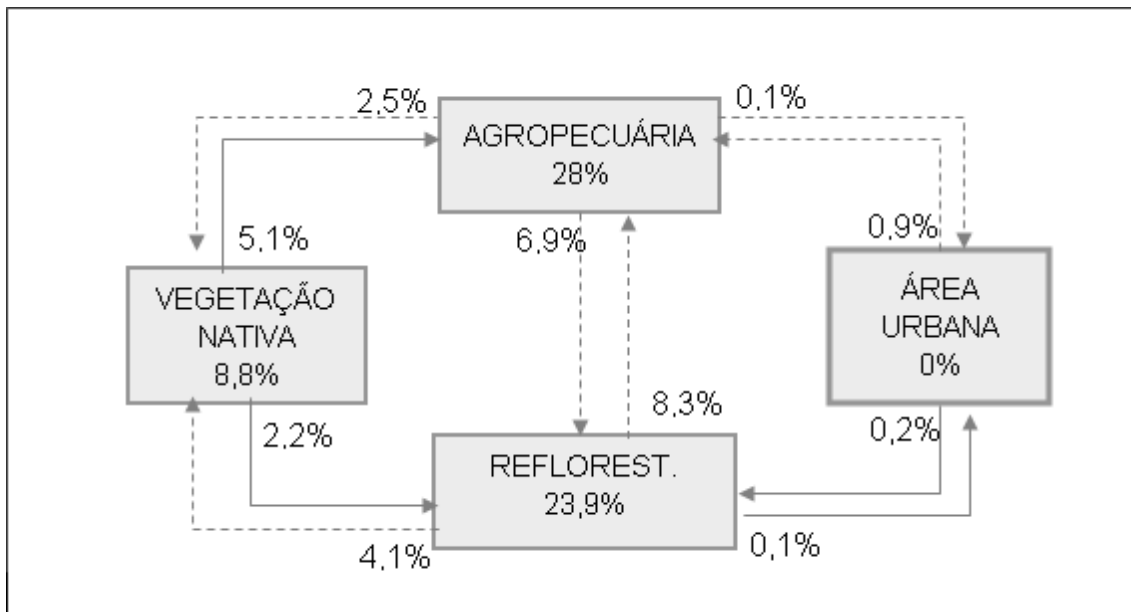
A área do buffer é de 2.830,59 ha. As imagens mostraram variação na classe agropecuária de 37,9%, em 2002, para 43,2%, em 2009. O reflorestamento diminuiu de 36,5% para 33,3%, no mesmo período (**Figuras 14 e 15**). Como mostrado anteriormente (**Figura 1**), uma pequena parte deste “buffer” alcançou o município de Jacareí.

**Figura 14.** Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. *Buffer Pedras*, 2002, 2008 e 2009.



\* Não foi detectada a classe agricultura neste buffer.

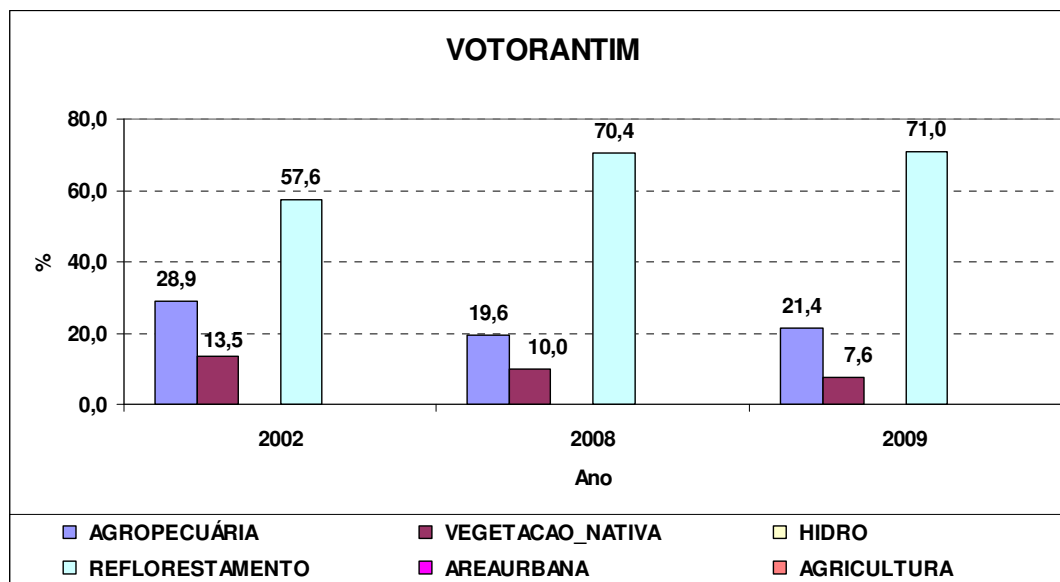
**Figura 15.** Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. *Buffer Pedras*, entre os anos de 2002 e 2009.



#### 4.1.2.2. Buffer Votorantim

A área do buffer é de 2.830,86 ha<sup>2</sup>. A variação observada pelas imagens de satélite foi na classe agropecuária de 28,9%, em 2002, para 21,4%, em 2009. A área de vegetação nativa reduziu-se de 13,5% para 7,6%. A classe reflorestamento teve um significativo aumento de 57,6% para 71%, como era de se esperar, pois a área é voltada quase que exclusivamente para a silvicultura (Figuras 16 e 17). Como mostrado anteriormente (Figura 1), parte deste “buffer” atingiu o município de Salesópolis.

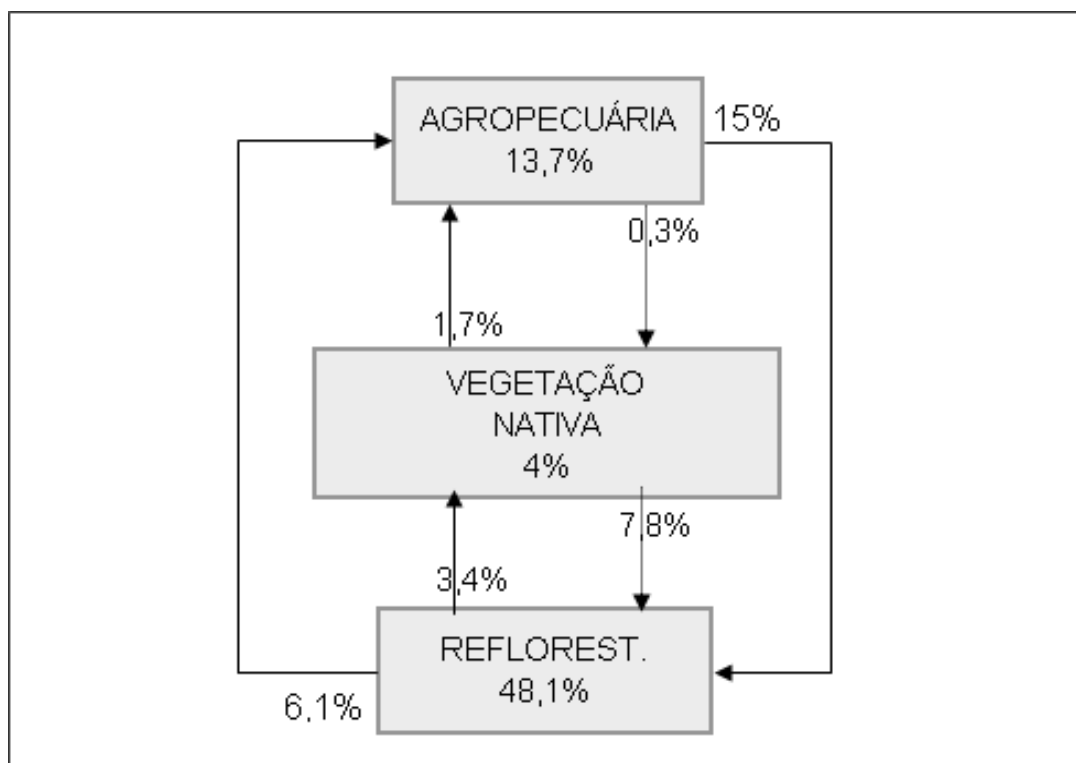
**Figura 16.** Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. Buffer Votorantim, 2002, 2008 e 2009.



\* Não foram detectadas as classes hidro, área urbana e agricultura neste buffer.



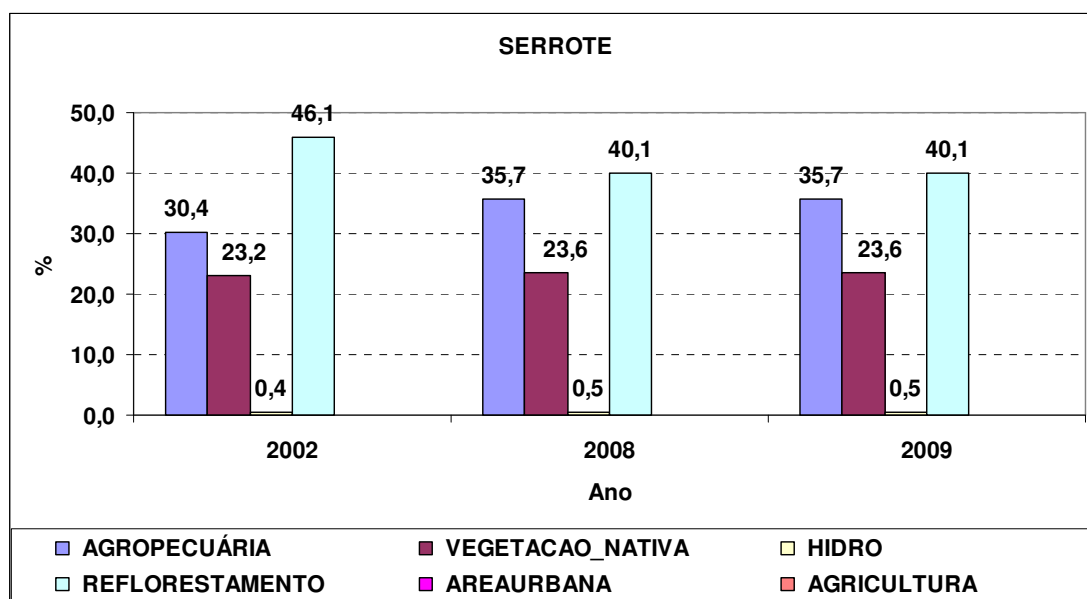
**Figura 17.** Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. *Buffer* Votorantim, entre os anos de 2002 e 2009.



#### 4.1.2.3. *Buffer* Serrote

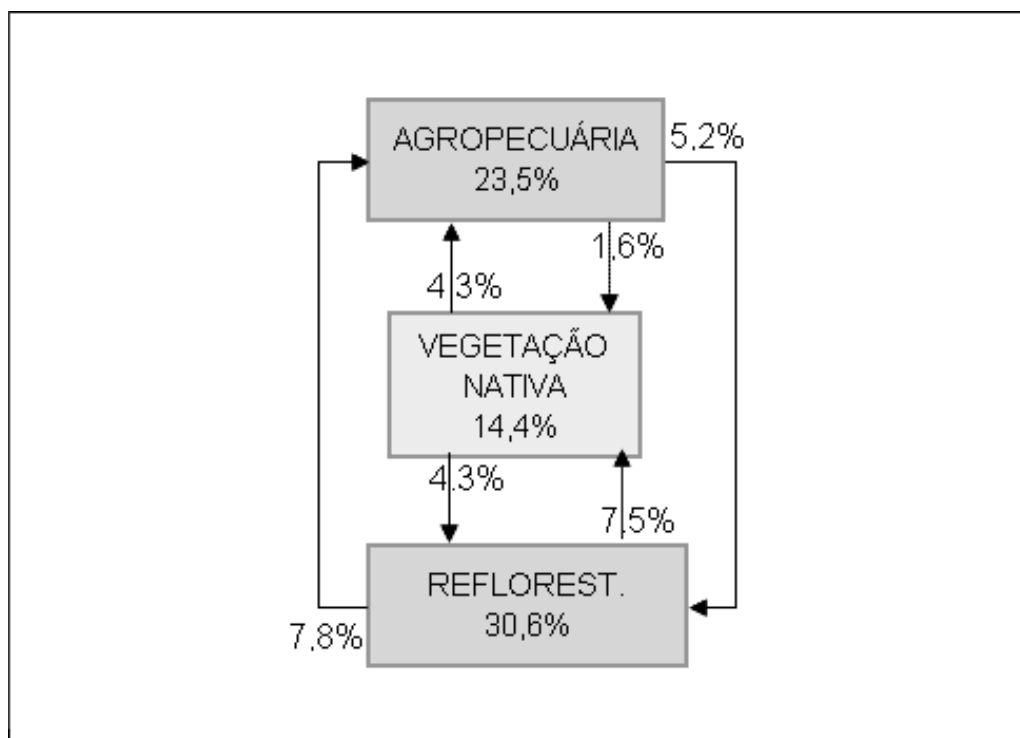
A área deste *buffer* é de 6.750,18 ha, pois houve sobreposição de três *buffers*, gerados a partir de três pontos distintos. A variação observada por meio das imagens de satélite, no período de 2002 a 2009, foi de 30,4% para 35,7%, na classe agropecuária e de 46,1% para 40,1%, na classe reflorestamento (**Figuras 18 e 19**). É interessante notar que este *buffer* é o que possui a área de vegetação nativa mais extensa, ocupando aproximadamente 23% da sua área total. Quase a metade da área deste “*buffer*” recaiu sobre o município da Paraibuna, como mostrado anteriormente (**Figura 1**).

**Figura 18.** Distribuição percentual das classes de cobertura da terra e uso do solo. *Buffer Serrote, 2002, 2008 e 2009.*



\* Não foram detectadas as classes área urbana e agricultura neste buffer.

**Figura 19.** Dinâmica das porcentagens de intercorrências entre as classes de cobertura da terra e uso do solo. *Buffer Votorantim, entre os anos de 2002 e 2009.*



## 4.2. Diagnóstico de Raiva

Foram realizadas as provas de IFD, IC e RT-PCR em material coletado de animais silvestres e ADIE nos municípios de Santa Branca e Jacareí, entre os anos de 2002 e 2009 (**Apêndice 1**), com a finalidade de detectar a circulação do vírus da raiva na região. Nesta região tem ocorrido, nas duas últimas décadas, a substituição da pecuária leiteira pela silvicultura e pela pecuária de corte e mista. Consequentemente, encontram-se muitas casas, antes habitadas por trabalhadores rurais, atualmente sem moradores. Este fato suscitou a idéia de se estudar a ocorrência da raiva nestes municípios para melhor entender a circulação do vírus entre as diferentes espécies.

De um total de 107 amostras (**Quadro 3**) analisadas neste trabalho, 88 eram oriundas de animais silvestres aéreos (morcegos), 14 de animais silvestres terrestres e cinco de ADIE.

Apenas algumas amostras de ADIE foram submetidas à RT-PCR com o intuito de confirmar o que é propalado por vários pesquisadores, ou seja, o fato da raiva destes animais ser transmitida pelo morcego vampiro comum, fato este corroborado pelo estudo.

Nenhum animal silvestre terrestre foi diagnosticado positivo para a doença, o que já havia sido relatado por FAVORETTO et al. (2009) em estudo feito em Bertioga, litoral norte do Estado de São Paulo, próximo ao Vale do Paraíba, quando analisaram material colhido de 27 animais silvestres terrestres.

Dos morcegos analisados, encontrou-se positividade apenas na família Molossidae, não sendo diagnosticada a doença nas famílias Vespertilionidae e Philostomidae (**Quadro 4**). De um total de 88 morcegos analisados, encontrou-se a doença em três insetívoros, sendo dois *Molossus molossus* e um *Molossus rufus*. QUEIROZ et al. (2009), em estudo realizado no noroeste do Estado de São Paulo, entre 1993 e 2007, encontraram, entre morcegos positivos para raiva, 70% de insetívoros e 30% de frugívoros, não diagnosticando nenhum hematófago positivo para a enfermidade.

**Quadro 4.** Resultado das provas de imunofluorescência direta (IFD), inoculação intra-cerebral (IC) e reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) em animais silvestres aéreos, por família estudada.

Família	Nº	Positivos IFD/IC	Positivos RT-PCR
Vespertilionidae	6	-	-
Philostomidae	30	-	-
Molossidae	52	-	3
Total	88	-	3

### 4.3. Sequenciamento e análise filogenética

Das amostras analisadas, oito foram positivas para a reação de RT-PCR direcionada para a glicoproteína viral, sendo que destas, cinco foram positivas para a reação de RT-PCR direcionada para a nucleoproteína viral. Para o sequenciamento genético, foram utilizadas somente as amplificações referentes à glicoproteína viral (**Quadro 5**).

Para confirmar que a raiva que acomete os ADIE é transmitida pelo morcego vampiro comum, *Desmodus rotundus*, fato descrito por vários pesquisadores, optou-se por fazer a classificação em cinco isolados das amostras positivas para IFD e IC oriundas de dois equinos e três bovinos, o que foi ratificado, como era de se esperar. Dentre os três isolados referentes aos morcegos insetívoros (**Quadro 5**), sendo dois *Molossus molossus* e um *Molossus rufus*, dois isolados do vírus da raiva foram identificados como pertencentes à linhagem que tem como provável reservatório o morcego *N. laticaudatus*, e o terceiro isolado foi classificado como pertencente a linhagem específica da espécie *T. brasiliensis*, de acordo com os resultados obtidos por OLIVEIRA (2009) (**Quadro 5 e Figura 20**).

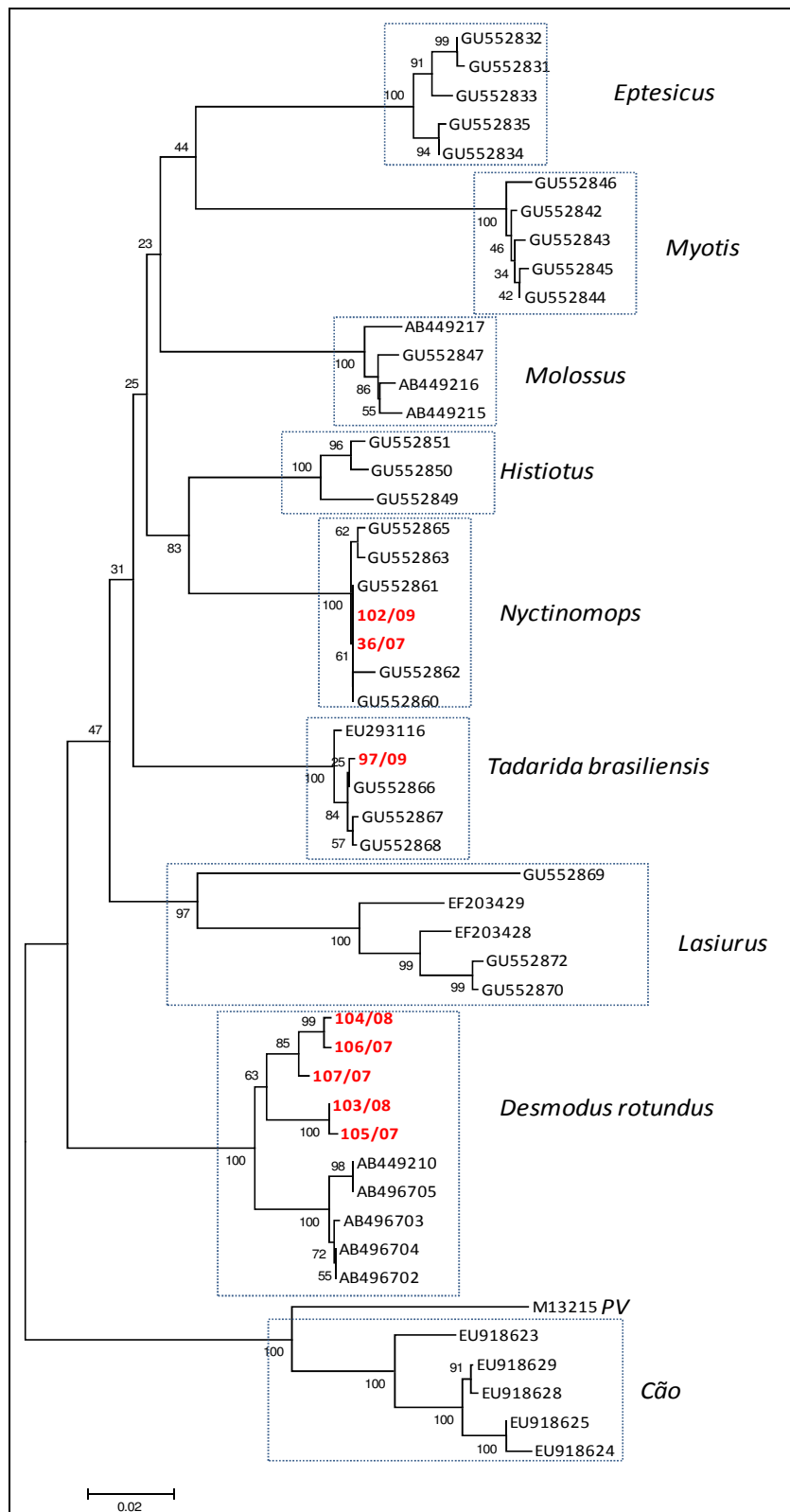
**Quadro 5.** Amostras de RABV positivas para as reações de RT-PCR dirigidas para nucleoproteína N, glicoproteína G, sequenciamento e linhagem relacionada.

Amostra	Espécie	PCR N	PCR G	Sequenciamento G	Linhagem
36/07	<i>M. rufus</i>	Positivo	Positivo	realizado	<i>Nyctinomops</i>
97/09	<i>M. molossus</i>	Positivo	Positivo	realizado	<i>T. brasiliensis</i>
102/09	<i>M. molossus</i>	Positivo	Positivo	realizado	<i>Nyctinomops</i>
103/08	Bovino	Positivo	Positivo	realizado	<i>D. rotundus</i>
104/08	Bovino	NEGATIVO	Positivo	realizado	<i>D. rotundus</i>
105/07	Bovino	Positivo	Positivo	realizado	<i>D. rotundus</i>
106/07	Equino	NEGATIVO	Positivo	realizado	<i>D. rotundus</i>
107/07	Equino	NEGATIVO	Positivo	realizado	<i>D. rotundus</i>

Para se obter a classificação dos isolados foram utilizadas as sequencias de bases referentes à glicoproteína do RABV. Como já era esperado, pelas citações de vários autores, as duas amostras oriundas de equinos assim como as três amostras originárias de bovinos foram compatíveis com variante 3, situando-se no *cluster* de *Desmodus rotundus*, como é mostrado na árvore de distância (**Figura 20**).

De 88 amostras colhidas de morcegos, em apenas 3 foi detectada a presença do RABV, sendo todas de molossídeos. O material isolado de *Molossus rufus* foi compatível com linhagem que circula na espécie *Nyctinomops laticaudatus*, assim como a amostra oriunda de um exemplar de *Molossus molossus*. O material coletado de outro espécime de *Molossus molossus*, resultou em amostra de RABV que se agrupou no *cluster* de *Tadarida brasiliensis* (**Figura 20**).

**Figura 20.** Árvore de distância genética com algoritmo Neighbor-joining, modelo evolutivo MCL para 582 nt do gene *G* de RABV (nucleotídeos 3.360 ao 3.941).



\* Em vermelho, isolados referentes a este estudo. Os valores em cada nó representam os resultados de 1000 repetições de bootstrap. São Paulo, 2010

## 5. DISCUSSÃO

Com a finalidade de verificar se as alterações nas classes de cobertura da terra e no uso do solo influenciam na ocorrência de transmissão da raiva nos municípios de Jacareí e de Santa Branca, situados na região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, utilizou-se mapeamento baseado em imagens de satélite TM Land-Sat.

Os resultados mostraram que, entre os anos de 2002 a 2009, ocorreu um aumento relativo de 9% na classe agropecuária e uma diminuição de, aproximadamente, 7% na classe vegetação nativa, no município de Jacareí. No mesmo período, utilizando as mesmas ferramentas, no município de Santa Branca, foi observado um aumento de aproximadamente 5% na classe agropecuária, um decréscimo de 2,6% na classe vegetação nativa e uma diminuição de 2,4% na classe reflorestamento.

É importante salientar que estas imagens apresentam limitações, pois pode haver dificuldade de distinguir entre áreas de reflorestamento que foram cortadas recentemente ou que foram plantadas há pouco tempo e a classe agropecuária. Também há uma limitação em áreas iguais ou menores do que quatro hectares. Neste caso as pequenas áreas podem ser contabilizadas como parte da classe dominante.

Em Jacareí, pode-se afirmar que no *buffer* Ênio há inúmeros abrigos artificiais, pois a área é cortada pelas rodovias D. Pedro I, Presidente Dutra e Ayrton Senna, além da Rede Ferroviária (RFFSA). Todas estas vias de comunicação possuem bueiros coletores de água pluvial, onde são encontradas, com frequência, colônias de *Desmodus rotundus*. Na região, também há casas abandonadas nas proximidades do Rio Parateí e do condomínio Recanto dos Pássaros.

Comprovando a utilização destas estruturas, propiciadas pela ação humana, GONÇALVES et al. (1996) relatam que aproximadamente 70% dos abrigos de *Desmodus rotundus* cadastrados pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SAA), são artificiais, o que mostra que na falta de fonte de alimentação próximo aos abrigos naturais, esta espécie se desloca para abrigos situados nas proximidades do seu alimento.

Neste *buffer* ocorreu a morte de um equino pela raiva sendo que a composição do *buffer* àquela época era 56,7% de agropecuária, 25,9% de vegetação nativa, 10,7% de reflorestamento e 6,6% de área urbana, o que por si só, não permite construir uma hipótese.

O segundo *buffer* criado no município de Jacareí, intitulado Molossus, é mais amplo, pois houve sobreposição de três *buffers*. O primeiro ponto obtido teve como centro a Fazenda Reserva, na periferia de Jacareí, onde ocorreu a morte de uma vaca por raiva, no início de 2008. O segundo ponto, no mesmo *buffer*, foi um caso de raiva em morcego insetívoro, no bairro Jardim Dindinha, onde o morcego estava caído na área externa de uma residência, sem movimentação. Os outros dois pontos onde foram diagnosticados quirópteros positivos para a doença, em 2009, são praticamente coincidentes. Os dois morcegos eram insetívoros e encontravam-se caídos, um na Biblioteca Municipal e o outro, no Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE), próximos da Praça da Matriz, região central da cidade. Não foi relatado contato dos morcegos positivos com nenhum ser humano ou animal.

É fundamental enfatizar que são dois ciclos distintos, rural na Fazenda Reserva, onde os herbívoros foram infectados com a linhagem viral que tem como reservatórios os morcegos hematófagos *D. rotundus* e, aéreo na cidade. No Jardim Dindinha, o morcego positivo para raiva era *Molossus rufus* com linhagem encontrada, mais frequentemente, em *Nyctinomops laticaudatus*. Na biblioteca, o morcego era *Molossus molossus* com variante viral encontrada em *N. laticaudatus*, ao passo que no SAAE o morcego diagnosticado positivo para raiva também era um *M. molossus* com variante viral de *Tadarida brasiliensis* (**Fig. 20** árvore de distância).

O fato destes vírus terem sido isolados de três morcegos do gênero *Molossus*, o qual provavelmente também possui sua linhagem viral gênero específica (OLIVEIRA, 2009), pode ser explicado devido ao evento conhecido como salto inter-espécie (*Spillover*), no qual um dado reservatório é infectado com uma linhagem de um patógeno não característico da sua espécie, um evento já estabelecido para a raiva sendo descrito para várias espécies de mamíferos de diferentes regiões (HOLMES, 2002). Este fato foi encontrado para morcegos insetívoros por OLIVEIRA (2009), em sua dissertação de



mestrado, na qual estudou diversos isolados de morcegos insetívoros do estado de São Paulo.

BREDT e UIEDA (2002), em estudo sobre a biologia de *Molossus molossus*, realizado em Brasília (DF), relataram a coabitação desta espécie com seis espécies insetívoras: *Eptesicus brasiliensis*, *Eumops glaucinus*, *Nyctinomops laticaudatus*, *N. aurispinosus*, *Cynomops planirostris*, *Peropteryx macrotis*, e uma espécie nectarívora *Glossophaga soricina*. No município de Jacareí, foi registrada a convivência de *Molossus molossus* com *Molossus rufus*, *Phyllostomus hastatus* e *Glossophaga soricina*, além de uma espécie pertencente à família *Vespertilionidae* que poderia ser *Lasiurus sp.*, mas não foi devidamente identificada. Este comportamento, talvez, possa explicar o fato de se encontrar circulando em *Molossus sp.* linhagens do vírus da raiva encontrada normalmente em *Nyctinomops laticaudatus* e *Tadarida brasiliensis*, como mostra a análise filogenética, árvore de distância.

Outros acontecimentos registrados podem sugerir diferentes maneiras de ocorrer a transmissão do RABV entre espécies distintas, como os relatos de BRITO et al. (2010) da predação de *Tadarida brasiliensis* por *Chrotopterus auritus* e de *Carolia perspicillata* pelo mesmo *C. auritus* (BORDIGNON, 2005).

SOUZA et al. (2008), realizando vigilância epidemiológica em morcegos, no município de Botucatu (SP), entre os anos de 1992 e 2000, encontraram uma positividade de 0,2%, a qual pode ser considerada baixa. De um total de 1480 morcegos, apenas três foram positivos para a raiva, sendo um hematófago e dois insetívoros. Dos dois insetívoros positivos, um era *Tadarida brasiliensis* e o outro era *Molossus molossus*. Dentre 585 não hematófagos havia 44,79% de frugívoros, 27,52% de nectarívoros, 27,35% de insetívoros e 0,34% de carnívoros. No universo dos não hematófagos a positividade para a raiva foi de 0,34%. Em relação aos 849 hematófagos, *Desmodus rotundus*, apenas uma fêmea foi diagnosticada positiva.

É notável, que em Santa Maria da Serra, município próximo a Botucatu, mesmo com grande número de bovinos mortos por raiva paralítica, de 85 hematófagos examinados, não se logrou isolar o vírus da raiva de nenhum indivíduo (SOUZA, 2008). Sugere-se que isto pode ocorrer pelo fato de

morcegos doentes não saírem do abrigo, ou se saírem, tornam-se presas mais fáceis para seus predadores. Na região de Botucatu existem vastas áreas de reflorestamento e citricultura, o que não favoreceria condições de abrigo para *Desmodus sp.* Talvez, isto explique o fato de, quando encontradas, em abrigos artificiais ou naturais, as colônias serem numerosas.

No Vale do Paraíba, geralmente as grandes áreas de silvicultura têm em seu interior muitas casas abandonadas, que antes eram moradia de empregados das fazendas de leite que passaram a explorar a madeira, e que agora servem como abrigos de morcegos. Também são encontradas propriedades que criam animais para leite, aptidão mista e corte próximas às áreas de reflorestamento. Outro hábito aqui observado é o fato da maior investidora de celulose da região arrendar, quando as árvores já cresceram, mas ainda não atingiram ponto de corte, as terras sob a plantação para que criadores coloquem rebanhos de corte para comer o capim que aí cresce, especialmente na época da seca. Estes detalhes permitem que sempre haja fonte de alimentação e abrigos disponíveis para o morcego vampiro comum, favorecendo a sua sobrevivência. No trabalho realizado em Jacareí e Santa Branca foram encontrados três morcegos insetívoros positivos para a doença em 88 examinados, sendo um *Molossus rufus* e dois *Molossus molossus*.

No *Buffer* *Molossus* houve um aumento de, aproximadamente, 9% na classe agropecuária, uma queda de 7% na classe reflorestamento e um decréscimo de 2,4% na classe vegetação nativa. Estas variações ocorridas, entre os anos de 2002 e 2009, não seriam significativas a ponto de explicar a ocorrência da enfermidade.

No município de Santa Branca, criou-se um *buffer*, denominado Serrote, que resultou em uma área maior, pois houve sobreposição entre um *buffer* inicial, com centro na Fazenda Serrote, onde foram diagnosticados positivos para raiva, através de exames laboratoriais, dois equinos, em fevereiro de 2007. Frise-se que nesta propriedade já haviam morrido outros cinco equinos com diagnóstico presumível de raiva. Em abril de 2007, ocorreu a morte de um bovino na Fazenda Patizal localizada na divisa dos municípios de Santa Branca e Paraibuna. Em abril de 2008, morreu mais uma bezerra na Fazenda Caeté. Como os *buffers* relativos a cada ponto geográfico onde ocorreram os focos se

sobrepunham, foram agrupados em um único *buffer*. Nesta área de estudo houve um aumento de 5,3% na classe agropecuária e de 6% na classe reflorestamento. Dentre todos os *buffers* este é o que apresenta, relativamente, a maior área de vegetação nativa, com importantes abrigos naturais, pois o relevo favorece a formação de grutas de pedra, e também, muitos abrigos artificiais, já que esta é uma região onde a pecuária leiteira foi preterida em favor da criação de gado de corte e da silvicultura, ou seja, há inúmeras casas, antes ocupadas por trabalhadores rurais, que são abrigos de *Desmodus rotundus*. Confirmando estes possíveis abrigos, na Fazenda Vargem Grande, foram contabilizadas 23 casas abandonadas; nas Fazendas São Pedro, dos Ypês e Pinheiral, encontraram-se três casas em desuso em cada propriedade; na Fazenda Serrote, quatro; na Fazenda Caeté, duas e na Fazenda Barra Limpa, uma usina hidro-elétrica abandonada. Salienta-se, ainda, que na Fazenda Barra Limpa foram capturados 87 morcegos hematófagos, apenas nesta edificação. Todos estes abrigos artificiais estão dentro do *buffer*.

Em Santa Branca, em abril de 2007, ocorreu a morte de uma bezerra com diagnóstico positivo para raiva, no Sítio das Pedras, dando origem ao *buffer* denominado Pedras. Neste *buffer* houve um aumento de 5,3% na classe agropecuária, entre 2002 e 2009, o que não justifica a ocorrência da enfermidade.

Em dezembro de 2008, na Fazenda Votorantim, localizada em Santa Branca, próximo à divisa com Salesópolis, morreu um equino com diagnóstico positivo para raiva. Neste *buffer*, como era de se esperar, por se tratar de empreendimento quase que exclusivo de silvicultura, houve um aumento apreciável de 13,4%, na classe reflorestamento. A classe agropecuária diminuiu em 7,5% e a classe vegetação nativa decresceu em 5,9%. A diminuição da vegetação nativa foi mais marcante, já que a área inicial era de 13,5%, em 2002 e resumiu-se a 7,6%, em 2009. Neste *buffer* há a influência de abrigos artificiais, de onde se extraía a mica, entre os anos 1930 e 1960. Todas estas minas foram abandonadas, sendo excelentes criadouros de *Desmodus rotundus*.

O fato de não terem sido constatadas grandes alterações nas classes de cobertura da terra e no uso do solo, tanto nos municípios, assim como nos *buffers* (exceção feita a Votorantim), com o uso de imagens Land-Sat entre os

anos de 2002 e 2009, faz crer que se a escala utilizada fosse outra, talvez se chegasse a outras conclusões, já que o padrão de difusão da enfermidade ocorre pela propagação de ondas através de vastas áreas, as quais tenham a presença de bovinos, conforme observado por GOMES (2009), sugerindo que na análise de pequenas áreas, a influência do uso e da cobertura da terra pode ser limitada. Em outras palavras, se ao invés de olhar os municípios e, depois os *buffers*, fosse observado o Vale do Paraíba como um todo, poder-se-iam alcançar outros resultados.

Na escala temporal, também poderiam ocorrer outros números se a série histórica fosse mais ampla, pois, com certeza, as mudanças seriam mais acentuadas. Na realidade, mesmo sem apreciar as supostas alterações nas classes de cobertura da terra e no uso do solo, entre os anos de 2002 e 2009, por nós idealizadas, notou-se que os casos de raiva nunca deixam de ocorrer, pois a região possui inúmeros abrigos artificiais (túneis sob rodovias e ferrovias, casas abandonadas, minas e fornos de carvão em desuso) e, pelo seu relevo acidentado, também têm vários abrigos naturais, os quais são excelentes criadouros para *D. rotundus*, constituindo-se em verdadeiras “fábricas” da espécie.

Este quiróptero é um animal com uma enorme capacidade de adaptação (DELPIETRO et al., 1996) sendo um dos poucos seres a se beneficiar com o desequilíbrio provocado pelo ser humano, já que a destruição da vegetação nativa, com a finalidade de formar pastagens para a introdução de animais de interesse econômico, proporciona aos morcegos hematófagos uma farta e fácil fonte de alimentação, especialmente, comparando-se com a sua alimentação em mamíferos silvestres (GREENHALL, 1993).

A introdução da silvicultura, na região, nas últimas duas décadas, fez com que grandes fazendas de produção leiteira dispensassem muitos empregados, os quais migraram para a cidade, deixando inúmeras casas vazias, assim como, moradias de veraneio construídas à beira da represa são muitas vezes pouco habitadas ou até mesmo abandonadas, servindo de moradia para *Desmodus rotundus*. As minas de malacacheta exploradas, entre os anos 1930 a 1960, foram abandonadas, constituindo excelentes criadouros para esta espécie. Fornos de carvão usados para aproveitar a madeira que não serve para a

indústria de celulose, quando em desuso, também, são comuns na região. Todas estas mudanças provocadas pela ação humana, aliadas ao relevo acidentado, com muitas grutas de pedra, principalmente, nas regiões de vegetação nativa preservada e a proximidade do Rio Paraíba com seus afluentes e grandes represas foram citadas por TADDEI et al. (1991), como fatores que favorecem a proliferação do morcego vampiro, estão presentes nesta região.

DELPIETRO e RUSSO (1996) mostram que, quanto maior o conhecimento dos ecossistemas onde a raiva ocorre de forma endêmica, mais efetivo será o controle da doença. Estudo do acompanhamento de surto de raiva dos herbívoros realizado por eles, na Argentina, entre os anos de 1984 e 1993, mostra que barreiras naturais como grandes rios e cadeias de montanha, ou barreiras impostas pelo homem, como grandes plantações e ausência de animais de interesse econômico, como os bovinos e equinos, servem como cordão de isolamento, dificultando a progressão da enfermidade. Nas regiões onde havia maior concentração destes animais a velocidade de dispersão da raiva era maior e a epidemia apresentava maior duração. Na região deste estudo, há grandes áreas de plantio de eucalipto, mas é freqüente a presença de pequenas propriedades de exploração de agropecuária mista na vizinhança com fonte de alimentação disponível para os morcegos.

Em áreas de produção pecuária mista, com relevo mais acidentado, maior oferta de abrigos naturais, geralmente localizados em ambientes de vegetação nativa preservada, como a região deste estudo, a dispersão da raiva é facilitada, sendo mais complicado realizar o seu controle (DELPIETRO; RUSSO, 1996).

É nítido o fato de, nas localidades onde o controle das populações do morcego vampiro comum ser feito com regularidade, cada vez mais, tornar-se difícil encontrar grandes colônias, ocorrendo como que uma pulverização destas populações, como mencionado por UIEDA (1996). Esta observação tende a direcionar o controle populacional para a fonte de alimentação (capturas noturnas ao redor dos currais, onde ficam os animais sugados) ao invés dela ser feita nos abrigos diurnos.

GOMES (2009) deixa claro que as características do local são determinantes para a ocorrência da enfermidade. Onde houver abrigos naturais

ou artificiais e fonte de alimentação farta, as populações deste quiróptero tendem a se proliferar, aumentando o risco da doença. Contribui mais para o risco de ocorrência da enfermidade, um alto número de animais sugados e não, necessariamente, um rebanho muito numeroso e disperso (GOMES, 2005).

Os serviços oficiais de Defesa Sanitária Animal reconhecem que há subnotificação dos casos de doença, a ponto do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) considerar este fato consequência da ausência de uma vigilância adequada, decorrente da falta de recursos humanos e financeiros, que atinge os serviços oficiais (BRASIL, 2005). Também, a falta de conscientização dos produtores aliada à ineficiência da vigilância epidemiológica exercida pelos órgãos oficiais contribuem para que se considere que, a cada caso notificado, outros dez não o sejam (KOTAIT et al., 1998).

Outro fator que favorece o aparecimento da doença é a baixa cobertura vacinal, pois mesmo quando a vacinação contra a raiva era obrigatória, no Vale do Paraíba, os casos diminuíram, mas não pararam de ocorrer. Oficialmente, a cobertura vacinal é maior, mas infelizmente existem pequenos produtores, que não comercializam os seus produtos (carne e leite) em órgãos legalizados (cooperativas e frigoríficos) e, portanto não são cadastrados junto à Defesa Sanitária Animal. Na realidade, muitos destes vivem na clandestinidade, comercializando produtos de origem animal de forma ilegal. Outra falha vacinal que deve ocorrer é a falta de reforço nos animais jovens que receberam a primeira dose da vacina contra a raiva, prejudicando a sua imunização.

Salienta-se que foi suspensa a obrigatoriedade da vacinação contra raiva em ADIE, no Vale do Paraíba, o que leva a crer, que a tendência é de aumento dos casos de raiva, principalmente com a substituição dos animais mais velhos, já imunizados em campanhas anteriores, por animais jovens.

Em contrapartida os órgãos oficiais começaram a aumentar as exigências para a emissão das guias de trânsito animal (GTA) e melhoraram o formulário de declaração da vacina contra febre aftosa, o que vai dificultar as verdadeiras “mágicas” que eram executadas por criadores, especialmente os negociantes de gado, muito comuns nesta região. Este novo formulário contempla um acompanhamento rígido da progressão do rebanho, levando em conta sexo, idade, nascimentos e óbitos de forma mais precisa.

Com relação à vigilância de raiva em animais silvestres terrestres não foi diagnosticado nenhum caso positivo da doença no material coletado de 14 animais, nos municípios de Jacareí e Santa Branca, pelas provas de IFD, IC e RT-PCR. FAVORETTO et al.(2009) coletaram material de 27 animais na região de Bertioga, litoral norte do estado de São Paulo, próximo ao Vale do Paraíba, não constatando nenhuma positividade pelos exames de IFD e IC.

No Ceará, MORAIS et al., (2000) relataram a ocorrência de casos de raiva humana transmitidos pelo sagui de tufo branco (*Callithrix jacchus*) em várias localidades, com a particularidade de que a variante do RAVB encontrada não correspondia a nenhuma variante identificada no painel de anticorpos monoclonais usado para a identificação molecular do vírus nas Américas.

FAVORETTO et al. (2006) ao fazer caracterização genética de 22 amostras obtidas no Estado do Ceará, entre 1997 e 2003, identificou variantes antigênicas, tais como AgV2, mantida em cães circulando em *Cerdocyon thous* e *Procyon cancrivorous*, AgV3 associada com *Desmodus rotundus* encontrada circulando em bovinos (como ocorreu aqui neste estudo) e uma variante antes citada por MORAIS et al. (2000) circulando em saguis, a qual não correspondeu a nenhuma das variantes do painel de anticorpos monoclonais para o vírus da raiva nas Américas.

Ao estudar a epidemiologia da raiva na América do Norte, BIEK et al. (2007) relatam que a raiva em racoons (*Procyon lotor*), antes da década de 70, limitava-se ao sudeste dos Estados Unidos, particularmente à Flórida, embora este carnívoro terrestre fosse comum em todo o país. Esta localização mudou de forma drástica, quando, em 1977, uma variante do vírus da raiva de racoon foi detectada em West Virginia, várias centenas de quilômetros ao norte da localização inicial dos primeiros focos de raiva registrados nesta espécie. Do ponto de origem o vírus espalhou-se de forma explosiva ao longo da costa do Atlântico nos anos seguintes, e por volta de 1999, a epizootia atingiu uma área de milhares de quilômetros quadrados.

Poderia a raiva que ocorre em silvestres terrestres, na Região Nordeste do Brasil (SILVA et al., 2009), se espalhar pelo país? A única certeza que fica é que

deve-se fazer uma vigilância da melhor qualidade possível, dentro da realidade brasileira.

Outra questão difícil de ser equacionada é o fato de, na Região Sudeste, especialmente, São Paulo, onde teoricamente é exercida uma melhor vigilância, não ser registrado casos deste tipo de raiva, com exceção de um relato de ocorrência da enfermidade em *Cerdocyon thous*, por AgV3 de *Desmodus rotundus*, relatado por FAVORETTO et al. (2001). Uma luz parece vir de um trabalho realizado em Cuba por NADIN-DAVIS et al. (2006), quando ao estudar a raiva em mangostas, sugere haver um viés inevitável de notificação quando compara-se a ocorrência de raiva em animais silvestres e animais domésticos.

Realmente, ao se comparar o manejo de um rebanho leiteiro, o qual é ordenhado, medicado, recebe atenção reprodutiva e demais cuidados diários, nota-se que este é extremamente diferente de animais silvestres, que são raramente vistos vivos ou são encontrados apenas mortos atropelados nas rodovias, quando se coleta o material para a pesquisa da raiva.



## 6. CONCLUSÕES

Com o uso de imagens de satélite Land-Sat não foi possível constatar mudanças significativas na cobertura da terra e no uso do solo nos municípios de Jacareí e Santa Branca, entre os anos de 2002 e 2009, usando a escala de município. Na escala de *buffers*, apenas o *buffer* denominado Votorantim mostrou diferenças. Talvez, se fosse realizado um estudo em outra escala, como por exemplo, contemplando todo o Vale do Paraíba e numa série histórica mais longa, fosse possível constatar mudanças significativas.

Do material colhido dos animais silvestres terrestres não foi isolado o RABV em nenhuma das provas laboratoriais realizadas.

Do material colhido de animais silvestres aéreos foi isolado o RABV pela prova de RT-PCR, em três morcegos insetívoros encontrados caídos na região urbana de Jacareí, sendo identificadas como variantes mais comumente encontradas nos morcegos *Tadarida brasiliensis* e *Nyctinomops laticaudatus*.

Do material colhido de ADIE, com sintomatologia nervosa, foi diagnosticada a presença do RABV em quatro equinos, sendo três, em Santa Branca e um, em Jacareí. Os bovinos positivos foram três, em Santa Branca e um, em Jacareí. Todo o material oriundo destes animais foi positivo para IFD e IC, além de ser comprovada a variante de *Desmodus rotundus* por RT-PCR.

Apesar dos esforços para controlar a população de *Desmodus rotundus*, e da orientação para que sejam vacinados os ADIE, a raiva continua ocorrendo na região, embora em menores proporções.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acha PN, Málaga-Alba M. Economic losses due to *Desmodus rotundus*,. In: AM Greenhall & U. Schimidt (Eds). Natural history of vampire bats. BocaRaton: CRCPress; 1988. p.208-213.
- Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y a los animales, 3 ed. Washington: Organización Panamericana de Salud; 2003.
- Alencar AO, Silva GAP, Arruda MMD, Soares AJ, Guerra DQ. Aspectos biológicos e ecológicos de *Desmodus rotundus* (Chiroptera) no nordeste do Brasil. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro: 1994; 14(4): 95-103.
- Altenbach J. Locomotor Morphology of the Vampire Bat, *Desmodus rotundus*. Special Publications 6. University of New Mexico, New Mexico: American Society of Mammalogists, 1979.
- Altringham JD. Bats, Biology and Behavior. Oxford University Press. New York: University of Leeds, 1996.
- Amasino CF, Garbi CJ, Amasino MF. La rabia urbana en La provincia de Buenos Aires, Argentina: origen, evolucion, actualidad; 2002.
- Aranda M. e López de Buen L. Rabies in Skunks from Mexico. J. Wildlife Dis. 1999; 35: 574–577.
- Badrane H, Bahloul C, Perrin P, Tordo N. Evidence of two *Lyssavirus* phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. J. Virol. 2001; 75(7), 3268-3276.
- Barros JS, Freitas CEAA, Sousa FS. Raiva em animais silvestres no Estado do Ceará, particularmente na raposa (*Dusicyon vetulus*). Zoonose Revista Internacional. 1989; v. 1, n.1, p. 9-13.
- Belotto A, Leanes LF, Schneider MC, Tamayo H, Correa, E. Overview of rabies in the Americas. Virus Res. 2005; 111, 5-12.
- Biek R, Henderson JC, Waller L A, Rupprecht C E, Real LA. A high-resolution genetic signature of demographic and spatial expansion in epizootic rabies

virus. 2007. Disponível em:

<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0700741104>

Bingham J, Foggin, CM, Wandeler AI, Hill, FWG. The epidemiology of rabies in Zimbabwe. 2. Rabies in jackals (*Canis adustus* and *Canismesomelas*).

Onderstepoort J Vet Res.1999; 66:11–23.

Blanton JD, Hanlon CA, Rupprecht CE. Rabies surveillance in the United States during. Public Veterinary Medicine: Public Health; 2007.

Bordignon MO. Predação de morcegos por *Chrotopterus auritus* (Peters) (Mammalia, Chiroptera) no pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia. 2005; 22(4): 1207-1208.

Bourhy H, Kissi B, Audry L, Smreczak M, Sadkowska-Todys M, Kulonen K, Tordo N, Zmudzinski FJ & Holmes CE. Ecology and evolution of rabies virus in Europe. J. Gen. Virol. 1999; 80, 2545-2557.

Brasil. Ministério Da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Controle da raiva dos herbívoros. Brasília: MAPA/SDA/DAS, 2005. 104 p.

Bredt A, Uieda W. Aspectos da biologia do morcego insetívoro *Molossus molossus* (Molossidae) na área urbana de Brasília, Centro Oeste do Brasil. In: XXIV Congresso Brasileiro de Zoologia, Itajaí, SC. Resumos. Itajaí, SC : Editora e Gráfica Berger, 2002; v. 24. p. 502.

Brito JEC, Miranda JMD, Bernardi IP, Passos FC. Predação de *Tadarida brasiliensis* por *Chrotopterus auritus* no sul do Brasil. Chiroptera Neotropical. 2010; 16(1) Supl.

Burns RJ. Crecimiento y denticion del muiciélago vampiro en cautiverio, Tecnia Pecuaria en México. 1972; 20:33-37.

Caldeira JN. 1932. Santa Branca- A história de um povo que honra a civilização de São Paulo. Editora Organização Cruzeiro do Sul, São Paulo, 1932; 200p.

Carini A. Sur une grande épizootie de rage. Annales Institut Pasteur. 1911; v. 25, p. 843-846.

- Carey AB. Multispecies rabies in the east United States. In: Bacon PJ. Population dynamics of rabies in wildlife. Orlando, Academic Press. 1985; p. 23-41.
- Carnieli P. Produção de sondas genéticas não-radioativas para o diagnóstico do vírus da raiva pela técnica de RT-PCR e imunoquimioluminescência. São Paulo. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia da Universidade de São Paulo. Instituto Butantã. 1999; 98 p.
- Constantine DG. Geographic translocation of bats: knows and potential problems. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9, 17–21.
- Dean DJ, Abelseth MK, Atanasiu P. The fluorescent antibody test. In: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H. (eds.), *Laboratory Techniques in Rabies*, fourth ed. World Health Organization, Geneva. 1996; pp. 88-95.
- Delpietro HA, Russo G. Aspectos ecológicos y epidemiológicos de la agresión del vampiro y de la rabia parálitica en la Argentina y análisis de las propuestas efectuadas para su control. *Revue Scientific Technology Office Internationale de Epizooties.* 1996; v. 15, p. 971-984.
- Delpietro HA, Gury-Dhomen F, Larghi OP, Mena-Segura C, Abramo L. Monoclonal antibody characterization of rabies virus strains isolated in the River Plate Basin. *Zentralbl Veterinarmed [B].* 1997; 44 (8), 477–483.
- Ewing B, Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. ii. error probabilities. *Genome Research*, Cold Spring Harbor, 1998; v. 8, p. 186-194,
- Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, & Ball LA. *Virus taxonomy. Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* San Diego, CA: Academic Press; 2005.
- Favi M, & Catalan R. Rabia en Murciélagos en Chile. *Avances en Ciencias Veterinárias.* 1986; 1: 73–76.
- Favi M, & E Ramirez. Rabia humana en Chile. *Laboratorio al Día* 12: 7;1996.
- Favoretto SR, De Mattos CA, Carnielli Jr P, De Mattos CC, Carrieri ML & Kotait I. Rabies virus variant-3 isolated from a sylvestrial wildlife (*Cerdocyon*

*thous*) in São Paulo State- Brazil. In Seminário Internacional Morcegos como transmissores da Raiva. São Paulo, Brazil; 2001.

Favoretto SR, De Mattos CC, Morais NB, Carrieri ML, Rolim BN, Silva LM, Rupprecht CE, Durigon EL, De Mattos CA. Rabies Virus Maintained by Dogs in Humans and Terrestrial Wildlife, Ceará State, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid. 2006; Vol. 12, No. 12, December.

Flores-Crespo R & Arellano-Sota C. Biology and control of vampire bat, In: Baer GM (ed.), *The Natural History of Rabies*. CRC Press, Boca Raton. 1991; p.462-474.

Geoffroy E. Sur lês Phyllostomes et les Mégadermes. *Ann. Mus. Hist. Nat.* 1810; 15:157-198.

Goldwasser RA & Kissling RE. Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. *Proceedings of the Society Experimental Biology Medicine*, 1958;v.98, pp.219-23.

Gomes MN 2009. Padrões espaciais da raiva bovina e seus determinantes no Estado de São Paulo entre 1992 e 2003. São José dos Campos: INPE, 277 pp. 2009; Tese de Doutorado.

Gomes MN, Monteiro AMV, Nogueira-Filho VS & Gonçalves CA. O uso do Sensoriamento Remoto e de Sistemas de Informação Geográfica na análise de áreas de risco ao ataque de morcegos hematófagos em bovinos de quatro municípios da região de São João da Boa Vista, estado de São Paulo. *Anais 12º Simp. Bras. Sensoriamento remoto. SBSR, 2005*; p.2733-2740. Disponível em: <<http://marte.dpi.inpe.br/col/ltid.inpe.br/sbsr/2004/11.19.07.35/doc/2733.pdf>>

Gomes M N & Uieda, W. Abrigos diurnos, composição de colônias, dimorfismo sexual e reprodução do morcego hematófago *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy) (Chiroptera, Phyllostomidae) no Estado de São Paulo, Brasil *Revista Brasileira de Zoologia* 21. 2004; (3): 629–638.

Gonçalves CA. Controle de populações de morcegos hematófagos no Estado de São Paulo. *Boletim do Instituto Pasteur*, 1996; v. 1, n. 2, p. 45-49.

- Gonçalves MAS, Sá-Neto RJ, Brazil TK. Outbreak of aggressions and transmission of rabies in human beings by vampire bats in northeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002; 35(5):461–464.
- Greenhall AM. Ecology and bionomics of vampire bats in the America. In: Greenhall, A. M.; Artois, M.; Fekadu, M.(Eds). *Bats and rabies.* Lyon: Fondation Marcel-Mérieux. 1993; p. 3–57.
- Greenhall AM. The use of a precipitine test to determine host preferences of the vampire bats, *Desmodus rotundus* and *Diaemus youngi*. *Bijdragen Dierkunde.* 1970; 40:36-39.
- Greenhall AM, G Joermann, U Schimidt. *Desmodus rotundus.* *Mammalian Species,* Washington, DC. 1983; 202: 1-6.
- Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp. Ser.* 41. 1999; 95-98.
- Holmes EC, Woelk CH, Kassis R, Bourhy H. Genetic Constraints and Adaptive Evolution of Rabies Virus in Nature. *Virology.* 2002; 292: 247-257.
- Huxley TH. On the structure in *Desmodus rufus*. *Proc. Zool. Soc. London,* 1865; 22:386-390.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). *Manual técnico de uso da terra.* Rio de Janeiro: IBGE, 1999; 58 p.
- Kaplan C. Rabies: a worldwide disease. In: Bacon, P. J. *Population dynamics of rabies in wildlife.* London: Academic Press, 1985; p. 1-21.
- Koopman KF. Systematics and distribution, p. 7-17. In: A.M. Greenhall & U. Schimidt (Eds). *Natural history of vampire bats.* Boca Raton, CRC Press, 1988; 246p.
- Koprowski H. The mouse inoculation test. In: Meslin, F-X.; Kaplan, MMH *Laboratory techniques in rabies.* 4. ed. Geneva: World Health Organization. 1996; p. 80-87.

- Kotait I, Gonçalves CA, Peres NF, Souza MCAM, Tarqueta MC. Controle da raiva dos herbívoros. São Paulo: Instituto Pasteur; (Manuais Técnicos, 1) 1998.
- Kotait I. Controle da raiva dos herbívoros-Vacinação. Past In Pasteur Informa, 2001: In.6, p. 3.
- Kotait I, Carrieri ML, Takaoka NY. Raiva- Aspectos gerais e clínica. São Paulo: Instituto Pasteur, (Manuais Técnicos, 8) 2009.
- Lederberg J. Pathways of Discovery Infectious History. *Science* 14, 2000; 288: 287 – 293.
- Loza-Rubio E, Aguilar SA, Tordo N. Evidencias de una nueva variante de virus de rabia en México, que circula en zorrillos. Folleto de Investigación No 1 1998; CENID-Microbiología. INIFAP-SAGARPA. 1000 volúmenes.
- Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Vigilância em saúde: zoonoses. Brasília (DF); 2009. (Cadernos de Atenção Básica, 22).
- Ministerio de Salud y Previsión Social, 2001. Manual de normas para la prevención, vigilancia y eliminación de la rabia, La Paz.
- Ministerio de Salud y Previsión Social, 2002. Informe de la evaluación del programa nacional de rabia 1990–1999, La Paz.
- Morais NB, Rolim BN, Chaves HAM, Neto JB, Silva LM. Rabies in Tamarins (*Callithrix jacchus*) in the State of Ceará, Brazil, a Distinct Viral Variant? Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2000; Vol. 95(5): 609-610.
- Nadin-Davis SA, Huang, Armstrong WJ, Casey G, Bahloul AC, Tordo N, Wandeler AI. Antigenic and genetic divergence of rabiesviruses from bat species indigenous to Canada. *Virus Research*, 2001; 74: 139–156.
- Nadin-Davis SA, Torres G, Los Angeles Ribas M de, Guzman M, Cruz de La Paz R, Morales M & Wandeler AI. A molecular epidemiological study of rabies in Cuba. *Epidemiol. Infect.* Cambridge University Press, 2006.
- Natal D. Fundamentos de Saúde Pública. In: Philippi Jr., A. et al. Curso de Gestão Ambiental. Barueri, SP: Manole 2004.

Oliveira RN. Título: Vírus da raiva em morcegos insetívoros: implicações em epidemiologia molecular da diversidade dos genes codificadores da nucleoproteína e glicoproteína. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Mestrado, 2009; 81 p.

Orciari LA, Niezgodá M, Hanlon CA, Shaddock JH, Sanderlin JH, Yager PA, Rupprecht CE. Rapid clearance of SAG-2 rabies virus from dogs after oral vaccination. *Vaccine* 19, 2001; (31), 4511–4518.

Organización Pan-Americana de la Salud: Boletín de la Vigilancia epidemiológica de la rabia en las Américas. v. XXXIII, 2001. 40 p.

Pace, R. Algo sobre a raiva dos herbívoros no Brasil. *Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária*, 1943; v. 12, n. 3, p. 99-107.

PAHO. Programa Regional para la Eliminación de la Rabia Humana en América Latina: análisis de progreso 1990-1996, RABIES IN MEXICO 597 Washington, DC: Pan American Health Organization, *RIMS A10/ INF/27, Rev.1* (in Spanish) 1997.

Pastoret PP, Brochier B, Thomas I, Leveau T, Bauduin B, Costy F. Fox rabies in Europe. *Irish Veterinary Journal*, 1989; v. 42, p. 93 -95,

Patz JA, Graczyk TK, Geller N, Vittor AY. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *Int J Parasitol*, 2000; 30:1395–1405.

Peres NF, Carrieri ML, Carnielli-Jr P, Lazarini SRF, Diniz O & Silva AS. Dinâmica da difusão da raiva dos herbívoros no estado de São Paulo. *Anais Sem. Int. Morcegos como Transmissores da Raiva*. Instituto Pasteur, São Paulo, 2001; p.29-30.

Plowright W. Research on wildlife disease: is a reappraisal necessary? *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 1998; 7, 783-795.

Pybus MJ. Rabies and rabies control in striped skunks (*Mephitis mephitis*) in three prairie regions of western North America. *Journal of Wildlife Diseases*, 1988; 24: 434-449.



- Queiroz LH, de Carvalho C, Buso DS, Ferrari CI & Pedro WA. Epidemiological profile of rabies in the northwestern region of São Paulo State, from 1993 to 2007. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2009; 42(1):9-14.
- Rabia. *Boletín Epidemiológico Nacional*. Ministerio de Salud, Buenos Aires, Argentina, 1999; p. 26.
- Ralls K. Mammals in which females are larger than males. *The Quarterly Review of Biology*, Chicago, 1976; 51: 245-269.
- Rede Interagencial de Informação para a Saúde (Brasília). Indicadores básicos de saúde no Brasil: conceitos e aplicações. Organização Pan-Americana de Saúde, DF-Brasil, 2002; p.150-151.
- Rosenbaum RM. Urinary system. Pp. 331-387, in *Biology of bats* (W. A. Winsatt, ed.). Academic Press, New York, 1970; 1:1-406.
- Sato G, Itou T, Shoji Y, Miura Y, Mikami T, Ito M, Kurane I, Samara SM, Carvalho AAB, Nociti DP, Ito FH, Sakai T. Genetic and phylogenetic analysis of glycoprotein of rabies virus isolated from several species in Brazil. *J Vet Med Sci*, 2004; 66 (7):747-753.
- Schmidt C, Schimdt U & Manske, U. Observations of the behavior of orphaned juveniles in the common vampire bat (*Desmodus rotundus*). 1980; Pp.105-111, in *Proc. Fifth Internatl. Bat Res. Conf.* (D. E. Wilson, and A. E. Gardner, eds.). Texas Tech Press, Lubbock, 434 pp.
- Schneider MC. Rabia humana transmitida por murciélago hematófago en Brasil: modelo de transmisión y acciones de control. [PhD dissertation]. México, D.F.: Instituto Nacional de Salud Pública; 1996. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2007000900013&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2007000900013&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt). Accessed 25 April 2010.
- Shafer CL. *Nature reserves: island theory and conservation practice*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, 1990.
- Silva MLCR, Lima FS, Gomes AB, Azevedo SS, Alves CJ, Bernardi F et al . Isolation of rabies virus from the parotid salivary glands of foxes (*Pseudalopex*

vetulus) from Paraíba State, Northeastern Brazil. Braz. J. Microbiol. [serial on the Internet]. 2009 Sep [cited 2010 July 26] ; 40(3): 446-449.

Souza LC, Langoni H, Silva RC, Lucheis SB. Vigilância epidemiológica da raiva na região de Botucatu-SP: importância dos quirópteros na manutenção do vírus na natureza. Ars Veterinária, 2008. Disponível em:

<<http://www.arsveterinaria.org.br>>

Stephan H, Pirlot P. Volumetric comparisons of brain structures in bats. Z. Zool. Syst. Evol., 1970; 8:200-236.

Sudarshan MK. Assessing burden of rabies in India. WHO sponsored national multi-centric rabies survey. Assoc Prev Control Rabies India J, 2004; 6:445.

Sugay W, Nilsson MR. Isolamento do vírus da raiva de morcegos hematófagos do Estado de São Paulo, Brasil. Bol. Ofic. Sanit. Panamer, 1966; 60: 310-315.

Suthers RA. Vision, olfaction, taste. Pp. 265-309, in Biology of bats. (W. A. Wimsatt, ed.). Academic Press, New York, 1970; 2:1-477.

Taddei VA, Gonçalves CA, Pedro WA, Tadei WJ, Kotait I, Arieta C. Distribuição do morcego vampiro *Desmodus rotundus* no Estado de São Paulo e a raiva dos animais domésticos. Campinas, Impresso Especial da CATI, 1991; 107p.

Taddei VA. Sistemática de Quirópteros. Boletim do Instituto Pasteur, 1996; v.1, n. 2, p.3-15.

Trajano E. Movements of cave bats in southeastern Brazil, with emphasis on the population ecology of the common vampire bat, *Desmodus rotundus*. Biotropica, 1996; 28(1):121-129.

Travassos da Rosa ES, Kotait I, Barbosa TF, Carrieri ML, Brandao PE, Pinheiro AS, Begot AL, Wada MY, de Oliveira RC, Grisard EC, Ferreira M, Lima RJ, Montebello L, Medeiros DB, Sousa RC, Bensabath G, Carmo EH, Vasconcelos PF. Bat-transmitted human rabies outbreaks, Brazilian Amazon. Emerg. Infect. Dis., 2006; 12, 1197-1202.

Turner DC. The vampire bat: a field study in behavior and ecology. The John Hopkins Univ. Press, Baltimore, 1975; 145 pp.

- Uieda W, MM Hayashi, Gomes LH & Silva MMS. Espécies de quirópteros diagnosticadas com raiva no Brasil. *Boletim do Instituto Pasteur, São Paulo*, 1996; 2 (1): 17-36.
- Uieda W, Paleari LM, Lima RJS, Begot AL, Ribeiro JR, Campos, ACR. Aspectos ecológicos das agressões humanas por morcegos hematófagos na região norte do Brasil. Final report. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brazil. São Paulo: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo; 2002.
- Valderrama J, García I, Figueroa G, Rico E, Sanabria J, Rocha N, Parra E, Saad C, Páez A. Outbreaks of human rabies transmitted by vampire bats in Alto Baudó and Bajo Baudó municipalities, department of Chocó, Colombia. *Biomédica*, 2006; 26, 387–396.
- Velazquez-Monroy O, Vargas-Pino F, Gutierrez-Cedillo V & Lecuona-Olivares L. The XVI international conference “Rabies in the Americas”, Advances in canine rabies control in Mexico. Thomas Jefferson University, Philadelphia, Pennsylvania, USA, 2003; p. 78.
- Wandeler AI, Salsberg EB. Raccoon rabies in eastern Ontario. *Canadian Veterinary Journal*, 1999; 40: 731).
- Weis IT & Santos BV. Nossa Senhora da Conceição de Jacarehy. Editora Indústrias de Papel Simão S. A., 1990.
- Wiktor TJ, Koprowski H. Does the existence of rabies antigenic variants warrant re- evaluation of rabies vaccines? In: Conferência internacional sobre o impacto das doenças virais no desenvolvimento dos países latino-americanos e da região do Caribe I, Rio de Janeiro, Brasil. 1982; Anais: 94-112.
- Wilkinson GS. Social Organization and Behavior. In: Greenhall, A. M.; Schmidt U. (Ed.). *Natural History of Vampire Bats*. Florida: CRC Press, 1988; p. 85-95.
- Wu X, Hu R, Zhang Y, Dong G & Rupprecht C E. Reemerging Rabies and Lack of Systemic Surveillance in People's Republic of China *Emerging Infectious Diseases*, 2009; Vol. 15, No. 8. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/eid>>

Zhang YZ, Xiao DL, Sun YH, Yang XR, Yan YZ. The epidemic situation of human rabies from 1984 to 2002 and its preventive measures in China.

Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 2003; 24, 883–888.

Zhang YZ, Xiong CL, Xiao DL, Jiang RJ, Wang ZX, Zhang LX, Fu ZF. Human rabies in China. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005; 11, 1983–1984.

Zhang YZ, Xiong CL, Zou Y, Wang DM, Jiang RJ, Xiao QY. Molecular characterization of rabies virus isolates in China during 2004. *Virus Res.*, 2006; 21:179-88.

## APÊNDICE 1

Apresentação dos resultados dos exames laboratoriais realizados em animais silvestres terrestres, aéreos e animais de interesse econômico, para diagnóstico de raiva, coletados no período de 2002-2009.

N°	MUNICÍPIO	PROPRIETÁRIO	LOCAL	ANIMAL	ESPÉCIE	SEXO	RESULTADOS		
							IFD	IC	RT-PCR
1	S.BRANCA	Mica	Bairro Roseira	mH	<i>D.rotundus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2	JACAREÍ	Sra. Nilza	R.Cons. Antonio Prado,577	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3	JACAREÍ	Dr. Fernando Prado	Esc. Tec. Est. Conego J Bento	m nH	<i>A.lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4	JACAREÍ	Sra. Cleide	R.Olavo Bilac,222 -Vila Zezé	m nH	<i>G. soricina</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
5	JACAREÍ	Paulo S Pereira	Estrada do Lin Chin,1631	m nH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6	S.BRANCA	Faz Delta Um	Bairro Capelinha	mH	<i>D.rotundus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7	JACAREÍ	Esc. Mun. Vila Formosa	Vila Formosa	m nH	<i>A.lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8	JACAREÍ	Esc. Prof. Olivia Canettieri	R. Rossi Monteiro Lino,507	m nH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
9	JACAREÍ	Adriano	Sítio Chispita	m nH	<i>G.soricina</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
10	S.BRANCA	Faz. Santa Branca	Bairro Ouro Branco	cão do mato	<i>C. thous</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
11	S.BRANCA	River's	Rod. Nilo Máximo	cão do mato	<i>C. thous</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
12	JACAREÍ	Trevo Ayrton Senna	Rod. Carvalho Pinto	cão do mato	<i>C. thous</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
13	JACAREÍ	Chácara Sta. Eufrasia	Rod. Nilo Máximo	gambá	<i>D.marsupialis</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
14	S.BRANCA	Chácara Sta. Eufrasia	Rod. Nilo Máximo	gambá	<i>D. arsupialis</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
15	JACAREÍ	Sítio Paulo S Rossi	Rod. Nilo Máximo	cão do mato	<i>C. thous</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
17	JACAREÍ	Sra. Elisete Palau	R. Valentino Pinheiro, 363	m nH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
18	JACAREÍ	Prefeirura Municipal	Praça dos Três Poderes	m nH	<i>A.lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
19	JACAREI	Sr. Carlos Horiuchi	Rua 5, 745 - Bairro Santana	m nH	<i>A.lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
20	JACAREÍ	Casa da Agricultura	Pça Raul Chaves	m nH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
21	JACAREÍ	Sra. Maria	R. João Goulart, 34 - Jd. Jacinto	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
22	JACAREÍ	Jaldo	Rod. Nilo Máximo	jacarambeva	<i>Galictis vivatta</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
23	JACAREÍ	Vagner	Rod. Nilo Máximo	coelho	<i>L. europeans</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
24	JACAREÍ	Esc. T.Est. Conego J Bento	OBS. Capturado de dia	m nH	<i>A.lituratus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
25	JACAREÍ	Vigilância Sanitária	Av. Edouard Six	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
26	JACAREÍ	Parque Brasil	Pça Pq Brasil	m nH	<i>P. lineatus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

**Continua**

Apresentação dos resultados dos exames laboratoriais realizados em animais silvestres terrestres, aéreos e animais de interesse econômico, para diagnóstico de raiva, coletados no período de 2002-2009. (Continuação)

Nº	MUNICÍPIO	PROPRIETÁRIO	LOCAL	ANIMAL	ESPÉCIE	SEXO	RESULTADOS		
							IFD	IC	RT-PCR
27	JACAREÍ	Sra. Ana	R. Suécia, 57 - Jd Colonia(Dia)	m nH	<i>M. rufus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
28	JACAREÍ	Sra. Romilda-Esc. Carlos Porto	R. Leitão, 88	m nH	<i>A. lituratus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
29	JACAREÍ	Jordache Propaganda	R. 8 de dezembro, 97	m nH	<i>M. molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
30	JACAREÍ	Escola Benedito Mauro	Jardim São José	m nH	<i>M. molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
31	JACAREÍ	Sr. Nicolau Pecilack	Parateí do Meio	m nH	<i>A. lituratus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
32	S.BRANCA	Academia Space	Jdim. Das Flores	m nH	<i>M. molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
33	JACAREÍ	Sr. Plinio Levorin	St do Pfnio - Bairro Agudo	m nH	<i>Vespertiloidea</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
34	JACAREÍ	Compre Bem Supermercado	Centro	m nH	<i>M. rufus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
35	JACAREÍ	Sr. Luis Loyacono Neto	Rua Santa Helena	m nH	<i>M. molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
36	JACAREÍ	Sr. Benedita C Fernandes	Sta. Isabel-210, Dindinha	m nH	<i>M. rufus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
37	JACAREÍ	Secretaria de Agricultura	São Silvestre	m nH	<i>M. molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
38	JACAREÍ	Sra. Rose	Rua Miami-215	m nH	<i>M. rufus</i>	2F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
39	JACAREÍ	UK School	Rua Barão de Jacareí	m nH	<i>A. lituratus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
40	JACAREÍ	Corpo de Bombeiros	Av. Siqueira Campos	m nH	<i>A. lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
41	JACAREÍ	Sr. Adelcio	Rua Alaska-135	m nH	<i>M. molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
42	JACAREÍ	Sr. Marcos A Godoi	Veraneio Ijal	m nH	<i>M. molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
43	JACAREÍ	Estacionamento Lusus	Centro	m nH	<i>M. rufus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
44	S. BRANCA	Sr. Geovani	Morro do Cruzeiro	m nH	<i>M. molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
45	S. BRANCA	Chácara Sta. Eufrasia	Rod. Nilo Máximo	gambá	<i>D. arsupialis</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
46	JACAREÍ	Harmonia	Rod. Nilo Máximo	gambá	<i>D. arsupialis</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
47	JACAREÍ	Estrada Velha	UNIVAP	gambá	<i>D. arsupialis</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
48	JACAREÍ	Américo Flores	Rod.Sta. Branca Salesópolis	cão do mato	<i>C. thous</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
49	JACAREÍ	Centro	Av. Cap. Joaq. Prado,222	m nH	<i>A. lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
50	JACAREÍ	FAPIJA	Avaré	m nH	<i>M. molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
51	JACAREÍ	FAPIJA	Avaré	m nH	<i>M. rufus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
52	JACAREÍ	Roni	Igreja N. Sra. Aparecida	m nH	<i>A. lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
53	S. BRANCA	Forma Física	Praça da Matriz	m nH	<i>M. rufus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
54	JACAREÍ	Sítio do Plínio	Angola	m nH	<i>Vespertilionidae</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Continua

Apresentação dos resultados dos exames laboratoriais realizados em animais silvestres terrestres, aéreos e animais de interesse econômico, para diagnóstico de raiva, coletados no período de 2002-2009. (Continuação)

N°	MUNICÍPIO	PROPRIETÁRIO	LOCAL	ANIMAL	ESPÉCIE	SEXO	RESULTADOS		
							IFD	IC	RT-PCR
55	JACAREÍ	Süd Chemie	Jardim Emília	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
56	JACAREÍ	Mercadinho Pérola	Bandeira Branca	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
57	JACAREÍ	Escola Verdinho	Avareí	m nH	<i>M.rufus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
58	JACAREÍ	EMEI	Cidade Salvador	m nH	<i>Vespertilionidae</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
59	S. BRANCA	Rosa	Centro	m nH	<i>A.lituratus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
60	JACAREÍ	Sr. Paulo Santos	R. Minas Gerais	m nH	<i>G. soricina</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
61	S. BRANCA	Sr. Paulo André	R. Exp. João P Mendes, 28	m nH	<i>M.rufus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
63	S. BRANCA	Sr. Jaldo	Rod. Nilo Máximo , Km 1	tatu	<i>D.novemcinctus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
64	JACAREÍ	Sra. Rita	R. Jobi Aires, 394	m nH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
65	JACAREÍ	Sra. Adriana Nunes	R. Alfredo Schuring,108	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
66	JACAREÍ	EMEI	Cidade Salvador	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
67	JACAREÍ	Sra. Eliana	R. Pedro Gueri, 160	m nH	<i>M.rufus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
68	JACAREÍ	Posto de Saúde	Jd das Industrias	m nH	<i>M.rufus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
69	JACAREÍ	Clube Trianon	Alfredo Schurig	m nH	<i>A.lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
70	JACAREÍ	Sra. Silvana	R. José Magalhães,85 - São João	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
71	JACAREÍ	Jaime Veículos	Av.Maria Augusta F Gomes,498	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
72	JACAREÍ	KGIR	Avareí	m nH	<i>Vespertilionidae</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
73	JACAREÍ	Sra. Maria Luisa Portomelo	R. Luis Simon, 343	m nH	<i>G. soricina</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
74	JACAREÍ	Jaime Veículos	Av. Maria Augusta F	m nH	<i>A.lituratus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
75	JACAREÍ	Sra. Kiara	Col. Anglo-Latino	m nH	<i>M.rufus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
76	JACAREÍ	EMEI Celia Guedes	Jdim. Primavera	m nH	<i>M.rufus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
77	JACAREÍ	Cemitério Pq Sto Antonio	Parque Sto. Antonio	m nH	<i>A.lituratus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
78	JACAREÍ	Posto de Saúde	Jd das Industrias	m nH	<i>M.rufus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
79	JACAREÍ	Sr. Luciano Tolozza	Campo Grande	m nH	<i>Phillostomidae</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
80	JACAREÍ	Sra. Beatriz	R. João A Correia, 83	m nH	<i>G. soricina</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
81	JACAREÍ	Feira do Rolo	Centro	m nH	<i>P.lineatus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
82	JACAREÍ	Sítio Picapau	Rod. Nilo Máximo, km 7	tatu	<i>D.novemcinctus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
83	JACAREÍ	VCP Alessandra	São Silvestre	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
84	JACAREÍ	Fabrica Cebrace	Jd das Industrias	m nH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Continua

Apresentação dos resultados dos exames laboratoriais realizados em animais silvestres terrestres, aéreos e animais de interesse econômico, para diagnóstico de raiva, coletados no período de 2002-2009. (Continuação)

Nº	MUNICÍPIO	PROPRIETÁRIO	LOCAL	ANIMAL	ESPÉCIE	SEXO	RESULTADOS		
							IFD	IC	RT-PCR
85	JACAREÍ	PAT	Centro	m nH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
86	JACAREÍ	Mauri	R. Joaquim Pires, 9	m nH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
87	JACAREÍ	EMEI Celia Guedes	Jdim. Primavera	m nH	<i>M.rufus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
88	JACAREÍ	Centro de Imagens	Av. Edouard Six	m nH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
89	JACAREÍ	Edson Guedes	Jardim do Vale	m nH	<i>G. soricina</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
90	JACAREÍ	Faz. Sta. Hilda	Campo Grande	MH	<i>D.rotundus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
91	JACAREÍ	Sra. Maria José	UBS Pq Santo Antonio	mnH	<i>A. lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
92	JACAREÍ	Sra. Ana Maria	R Belo Horizonte,129 -V Formosa	mnH	<i>A. lituratus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
93	JACAREÍ	Praça da Matriz	Zona Azul	mnH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
94	JACAREÍ	Sindicato Trabalhadores	P.M. R. L. Simon, 337	mnH	<i>G.soricina</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
95	JACAREÍ	Creche Municipal	Bairro 22 de abril	mnH	<i>M. molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
96	JACAREÍ	Sra. Andréia - S. de Beleza	Rua Prof. A. M da Silva	mnH	<i>G. soricina</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
97	JACAREÍ	Biblioteca Municipal	Rua Antonio Afonso,325	mnH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
98	JACAREÍ	Sr. João Dias	Av. Diogo Fontes, 80 B.Nova Jac	mnH	<i>Vespertilionidae</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
99	JACAREÍ	Sr. Décio	Centro de Imagem	mnH	<i>M.molossus</i>	M	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
100	JACAREI	Caminhão NE	R. L. D. Serrano,71 Jd Jacinto	mnH	<i>Vespertiloidea</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
101	JACAREI	Escola Recriar - Sra. Sandra	R. Japão, 333	mnH	<i>G. soricina</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
102	JACAREI	SAAE	Praça da Matriz	mnH	<i>M.molossus</i>	F	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
103	JACAREI	Faz. Reserva	Mário Vieira	Bovino		F	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
104	S. BRANCA	Faz. Patizal	Amadeo Boccia	Bovino		F	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
105	S. BRANCA	Faz. Caetê	Márcio C. Magano	Bovino		F	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
106	S. BRANCA	Faz. Serrote	Antonio José T. Pizza	Eqüino		M	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
107	S. BRANCA	Faz. Serrote	Antonio José T. Pizza	Eqüino		M	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO

**LEGENDA:**

**IFD** – Imunofluorescência direta,

**IC**– Inoculação intracerebral,

**RT-PCR** – Reação de transcrição reversa-reação em cadeia pela polimerase,

**mH** – Morcego hematófago,

**mnH** – Morcego não hematófago





## João José de Freitas Ferrari

Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1982). Atualmente é médico veterinário da Prefeitura Municipal de Jacareí, e médico veterinário da COOPERATIVA DE LATICÍNIOS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS. Tem experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em Saúde Pública Veterinária, especialmente Raiva dos Herbívoros e Animais Silvestres. Está concluindo o Mestrado em Epidemiologia na Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.  
(Texto informado pelo autor)

Última atualização do currículo em 20/07/2010

Endereço para acessar este CV:  
<http://lattes.cnpq.br/8999359346067637>



**Certificado  
pelo autor em  
20/07/10**

### Dados pessoais

**Nome** João José de Freitas Ferrari

**Nome em citações bibliográficas** FERRARI, J. J. F.

**Sexo** Masculino

**Endereço profissional** Prefeitura Municipal de Jacareí, Diretoria de Agricultura e Abastecimento.  
Praça Raul Chaves, 82  
Centro  
12308-011 - Jacareí, SP - Brasil  
Telefone: (12) 39519911 Fax: (12) 39518084  
URL da Homepage: [www.jacarei.sp.gov.br](http://www.jacarei.sp.gov.br)

### Formação acadêmica/Titulação

**1978 - 1982** Graduação em Medicina Veterinária .  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

### Formação complementar

**2006 - 2006** Extensão universitária em Desenv. Tecnológico e Impacto sobre Rec. Naturais. (Carga horária: 180h).  
Universidade Estadual de Campinas.

**2006 - 2006** Mundança Climatica e Projeto de Creditos Carbono. (Carga horária: 4h).  
Secretaria de Estado do Meio Ambiente.

**2005 - 2005** Extensão universitária em Metodologia da Pesquisa Científica. (Carga horária: 90h).  
Universidade Estadual de Campinas.

**2005 - 2005** Extensão universitária em Desenvolvimento, Meio Ambiente e Recursos Naturais. (Carga horária: 135h).  
Universidade Estadual de Campinas.

**2005 - 2005** Extensão universitária em Climatologia Aplicada ao Planejamento da Produção. (Carga horária: 135h).  
Universidade Estadual de Campinas.

**2004 - 2004** Extensão universitária em Planejamento e Desenvolvimento Rural Sustentável. (Carga horária: 180h).  
Universidade Estadual de Campinas.

**2004 - 2004** Extensão universitária em Seminários. (Carga horária: 90h).  
Universidade Estadual de Campinas.

**1980 - 1980** Epidemiologia das Enfermidades Infecto-contagiosas. (Carga horária: 30h).  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

### Atuação profissional

#### Prefeitura Municipal de Jacareí, PMJ, Brasil.

##### Vínculo institucional

**2002 - Atual** Vínculo: Servidor Público, Enquadramento Funcional: MÉDICO VETERINÁRIO, Carga horária: 20

**Outras informações** COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE CONTROLE DA RAIVA DOS HERBÍVOROS E ANIMAIS SILVESTRES, BRUCELOSE, TUBERCULOSE E DOENÇAS VESICULARES.

##### Vínculo institucional

**1998 - 1998** Vínculo: AUTONOMO, Enquadramento Funcional: MÉDICO VETERINÁRIO



## Mauro Toledo Marrelli

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2

Professor Doutor do Depto. de Epidemiologia da FSP-USP (desde 2009). Possui Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Mackenzie (1990). Aperfeiçoamento em Protozoologia pelo Instituto de Medicina Tropical (FM-USP, 1992). Mestrado em Parasitologia, pelo ICB, Universidade de São Paulo (1995) e doutorado em Ciências (Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) (ICB-USP, 2000). Pós-doutorado pela Case Western Reserve University (Cleveland-OH) (2002), e pela Johns Hopkins School of Public Health (Johns Hopkins University) (Baltimore-MD) (2005). Tem experiência na área de Parasitologia e Epidemiologia de doenças transmitidas por vetores, atuando principalmente nos seguintes temas: malária, vetores, controle de vetores utilizando mosquitos transgênicos, fitness de mosquitos transgênicos, marcadores moleculares em entomologia.  
(Texto informado pelo autor)

Última atualização do currículo em 22/06/2010

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/687213819311416>



**Certificado  
pelo autor em  
22/06/10**



[Rede de Colaboração](#)



[Diretório de grupos de pesquisa](#)

### Dados pessoais

<b>Nome</b>	Mauro Toledo Marrelli
<b>Nome em citações bibliográficas</b>	MARRELLI, M. T.
<b>Sexo</b>	Masculino
<b>Endereço profissional</b>	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública. Av. Dr. Arnaldo 715 Cerqueira César 01246-904 - Sao Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617922

### Formação acadêmica/Titulação

<b>2005</b>	Pós-Doutorado . Universidade de São Paulo, USP, Brasil. <i>Bolsista do(a):</i> Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
<b>2003 - 2005</b>	Pós-Doutorado . Johns Hopkins University, JHU, Estados Unidos. <i>Bolsista do(a):</i> Johns Hopkins University, JHU, Estados Unidos. <i>Grande área:</i> Ciências Biológicas / <i>Área:</i> Parasitologia. <i>Grande área:</i> Ciências Biológicas / <i>Área:</i> Genética. <i>Grande área:</i> Ciências Biológicas / <i>Área:</i> Bioquímica.
<b>2002 - 2003</b>	Pós-Doutorado . Case Western Reserve University, CWRU, Estados Unidos. <i>Grande área:</i> Ciências Biológicas / <i>Área:</i> Bioquímica. <i>Grande área:</i> Ciências Biológicas / <i>Área:</i> Genética. <i>Grande área:</i> Ciências Biológicas / <i>Área:</i> Parasitologia.
<b>2000 - 2002</b>	Pós-Doutorado . Universidade de São Paulo, USP, Brasil. <i>Bolsista do(a):</i> Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil. <i>Grande área:</i> Ciências Biológicas / <i>Área:</i> Bioquímica. <i>Grande área:</i> Ciências Biológicas / <i>Área:</i> Genética. <i>Grande área:</i> Ciências Biológicas / <i>Área:</i> Parasitologia.
<b>1996 - 2000</b>	Doutorado em Ciências (Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) (Conceito CAPES 6) . Universidade de São Paulo, USP, Brasil. <i>Título:</i> Anopheles oswaldoi (Diptera, Culicidae): Análise do segundo espaçador interno transcrito (ITS2) do DNA ribossômico e da susceptibilidade à infecção com Plasmodium vivax, <i>Ano de Obtenção:</i> 2000. <i>Orientador:</i> Osvaldo Marinotti. <i>Bolsista do(a):</i> Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
<b>1993 - 1995</b>	Mestrado em Ciências (Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) (Conceito CAPES 6) . Universidade de São Paulo, USP, Brasil. <i>Título:</i> Anticorpos anti-Pfs2400 de gametócitos de Plasmodium falciparum em populações da Região Amazônica, <i>Ano de Obtenção:</i> 1996. <i>Orientador:</i> JK.Kloetzel. <i>Bolsista do(a):</i> Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
<b>1992 - 1993</b>	Aperfeiçoamento em Instituto de Medicina Tropical . Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Ano de finalização: 1993. <i>Orientador:</i> JK.Kloetzel. <i>Bolsista do(a):</i> Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.
<b>1986 - 1989</b>	Graduação em Bacharelado Em Ciências Biológicas . Universidade Presbiteriana Mackenzie, MACKENZIE, Brasil.
<b>1986 - 1988</b>	Graduação em Licenciatura Ciências Biológicas . Universidade Presbiteriana Mackenzie, MACKENZIE, Brasil.

# 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](#)