

REVISÃO SOBRE A RAIVA

Adaptado do texto do Dr. Fumio Honma Ito, Especialista em Epidemiologia da Raiva Animal da Universidade de São Paulo - USP e membro do Comitê Científico Consultivo sobre Raiva dos Herbívoros - CCR.

O que é a Raiva?

A raiva é uma doença aguda do Sistema Nervoso Central (SNC) que pode acometer todos os mamíferos, inclusive os seres humanos. É caracterizada por uma encefalomielite fatal causada por vírus do gênero *Lyssavirus*. A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), em seu Código Sanitário para os Animais Terrestres, lista a raiva na categoria das enfermidades comuns a várias espécies.

Etiologia

Na ordem *Mononegavirales* estão agrupados os vírus constituídos por RNA de fita simples (ssRNA), não segmentado e com polaridade negativa. Estão incluídas as famílias: *Filoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Bornaviridae* e *Rhabdoviridae*. A família *Rhabdoviridae* está subdividida em dois subgrupos de vírus de plantas, um grupo de vírus de peixes e três grupos de vírus de mamíferos, este último correspondendo aos gêneros:

- *Vesiculovirus*, relacionado com doença vesicular em animais;
- *Ephemerovirus*, relacionado com a febre efêmera dos bovinos;
- *Lyssavirus*, relacionado com encefalomielite fatal em mamíferos.

Na atualidade, os vírus do gênero *Lyssavirus* estão compreendidos em sete genótipos, conforme a resolução do Comitê Internacional sobre Taxonomia de Vírus (ICTV), havendo sido proposto um oitavo genótipo.

Em 1994, os especialistas em raiva, reunidos em Niagara Falls, EUA, propuseram a denominação de "genótipos" em substituição aos "sorotipos", até então utilizados para designar os diferentes membros do gênero *Lyssavirus*.

Os vírus da Raiva apresentam morfologia característica, em forma de bala de revólver, diâmetro médio de 75 nm e comprimento de 100 a 300 nm, variando de acordo com a amostra considerada. O vírion é composto por um envoltório formado por uma dupla membrana fosfolipídica na qual emergem espículas de aproximadamente 9 nm, de composição glicoproteica. Este envoltório envolve o nucleocapsídeo de conformação helicoidal, composto de um filamento único de RNA negativo e não segmentado. Estudos bioquímicos têm demonstrado que, além do RNA, é composto estruturalmente por cinco proteínas: uma RNA polimerase RNA-dependente (proteína L de 190 KDa), uma glicoproteína de superfície (proteína G de 65 a 80 KDa), uma nucleoproteína (proteína N de 57 a 62 KDa), uma fosfoproteína (proteína NS ou M1 de 35 a 41 KDa), e uma proteína matriz (proteína M ou M2 de 22 a 25 KDa).

O vírus da raiva, usualmente de transmissão pelo contato direto, é pouco resistente aos agentes químicos (éter, clorofórmio, sais minerais, ácidos e álcalis fortes), aos agentes físicos (calor, luz ultravioleta) e às condições ambientais, como dessecação, luminosidade e temperatura excessiva. No caso da desinfecção química de instrumentais cirúrgicos, vestuários ou do ambiente onde foi realizada a necropsia de um animal raivoso, são indicados o hipoclorito a 2%, formol a 10%, glutaraldeído a 1-2%, ácido sulfúrico a 2%, fenol e ácido clorídrico a 5%, creolina a 1%, entre outros. Como medida de desinfecção de ambientes, as soluções de formalina entre 0,25% e 0,90% e de bicarbonato de sódio a 1% e 2% inativam os vírus de forma rápida e eficiente. A perda de sua infecciosidade à temperatura de 80°C ocorre em 2 minutos e à luz solar, em 14 dias, a 30°C. Mesmo em condições ambientais adversas, o vírus da raiva pode manter sua infecciosidade por períodos relativamente longos, sendo então inativado naturalmente pelo processo de autólise. A putrefação destrói o vírus lentamente, em cerca de 14 dias.

Caracterização de Variantes

A tipificação antigênica com anticorpos monoclonais (Mabs), desenvolvida por Victor & Koprowski desde 1978 e, mais recentemente, a análise de seqüências nucleotídicas têm sido utilizadas para identificar variantes virais associadas a focos de raiva em todo o mundo. Esses dados, associados aos dados obtidos por meio da vigilância epidemiológica, podem auxiliar efetivamente na identificação do reservatório animal envolvido.

No Brasil, desde 1996, pela realização de um teste de imunofluorescência indireta com a utilização de um painel de anticorpos monoclonais contra a nucleoproteína viral, produzido pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, USA, e preestabelecido pela Opas, para o estudo de amostras isoladas nas Américas, puderam ser identificados seis perfis antigênicos preestabelecidos:

- variante 2 – cão, também isolada de humanos e animais silvestres terrestres;
- variante 3 – *Desmodus rotundus*, também isolada de outras espécies de morcegos, animais de companhia, domésticos, silvestres terrestres e humanos;
- variante 4 – *Tadarida brasiliensis*, também isolada de outras espécies não hematófagas e animais de companhia;
- uma variante semelhante à variante 5 – também relacionada a isolamentos de morcegos hematófagos em outros países, isolada de morcegos não hematófagos e em animais de companhia;
- variante 6 – *Lasiurus cinereus*, isolada de morcego insetívoro e um perfil que mostra reações positivas a todos os Mabs utilizados, observada em amostras de morcego não hematófago, cão e humano.

Além dessas variantes, outros seis perfis antigênicos não compatíveis com os preestabelecidos no painel puderam ser observados, associados a morcegos insetívoros e acometendo outros animais, além de um perfil relacionado a humanos e pequenos primatas, como os sagüis (*Callithrix jacchus*), no Nordeste do Brasil. Esses perfis distintos, em estudos genéticos posteriores, algumas vezes puderam ser associados a espécies reservatórios, como no caso da variante isolada em sagüis do Nordeste ou à variante associada ao morcego insetívoro *Histiotus velatus*.

As trocas nucleotídicas particulares detectadas nos diferentes isolamentos do vírus da raiva de campo permitem a identificação de variantes virais associadas a ciclos endêmicos diferentes ou provenientes de diferentes reservatórios domésticos e silvestres. No entanto, o estudo filogenético dessas variantes é pouco importante, se não se dispõe dos dados de vigilância epidemiológica correspondentes ao caso para identificar as circunstâncias em que se desencadeou o foco, além das espécies animais envolvidas e os aspectos que contribuiriam para a perpetuação do vírus na natureza.

Transmissores

Em países onde a raiva canina é controlada e não existem morcegos hematófagos, os principais transmissores são os animais silvestres terrestres, como as raposas (*Vulpes vulpes*), os coiotes (*Canis latrans*), os lobos (*Canis lupus*), as raposas-do-ártico (*Alopex lagopus*), os raccoon-dogs (*Nyctereutes procyonoides*), os guaxinins (*Procyon lotor*), os skunks (*Mephitis mephitis*), entre outros.

Por outro lado, onde a doença não é controlada, como ocorre na maioria dos países dos continentes africano, asiático e latino-americano, o vírus é mantido por várias espécies de animais domésticos e silvestres.

No Brasil, a principal espécie animal transmissora da raiva ao ser humano continua sendo o cão, embora os morcegos estejam cada vez mais aumentando a sua participação, podendo ser os principais responsáveis pela manutenção de vírus no ambiente silvestre. Identificações positivas de vírus da raiva já foram descritas em animais silvestres da fauna brasileira, tais como as raposas (*Dusicyon vetulus*), jaritacas (*Conepatus* sp), guaxinins (*Procyon cancrivorus*), sagüis (*Callithrix jachus*), cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), morcegos hematófagos e não hematófagos.

Patogenia

A patogenia descreve o caminho percorrido pelos vírus, desde o seu ponto de inoculação (porta de entrada) até a via de eliminação:

a) Porta de entrada:

A inoculação das partículas de vírus da raiva no organismo de um animal suscetível ocorre por lesões da pele provocadas, na maioria das vezes, pela mordedura de um animal infectado, que esteja eliminando vírus na saliva. É possível, ainda, que a infecção ocorra por feridas ou por soluções de continuidade da pele, quando em contato com saliva e órgãos de animais infectados. A possibilidade de sangue, leite, urina ou fezes conter quantidade de vírus suficiente para desencadear a raiva é remota.

Experimentos de transmissão da raiva por via oral têm sido relatados. O exato mecanismo envolvendo a transmissão oral ainda não foi esclarecido, porém uma das formas de imunização de animais silvestres atualmente adotada por alguns países ocorre por meio de iscas (para ingestão) contendo vacinas de vírus atenuado. Incidentes sugestivos de infecção oral ou nasal foram relacionados com raiva humana transmitida por aerossóis em laboratórios e em cavernas densamente habitadas por morcegos. No ser humano, a transplantação da córnea e outros órgãos infectados foi relacionada com o desenvolvimento da raiva nos pacientes receptores.

b) Período de incubação:

A variabilidade do período de incubação depende de fatores como capacidade invasiva, patogenicidade, carga viral do inóculo inicial, ponto de inoculação (quanto mais próximo do SNC, menor será o período de incubação), idade, imunocompetência do animal, entre outros.

No ser humano, o período médio de incubação é de 20 a 60 dias, embora haja relatos de períodos excepcionalmente longos. Por sua vez, a determinação do período de incubação da raiva natural em animais é de difícil comprovação, dada a dificuldade em registrar o momento exato da inoculação do vírus. Entretanto, estudos de infecção experimental realizados em diferentes animais, usando amostras virais de diferentes origens, têm mostrado variações, com períodos extremamente longos ou demasiadamente curtos.

Em cães, o período médio de incubação é de 3 a 8 semanas, com extremos variando de 10 dias a 6 meses. Em skunks (*Mephitis mephitis*) foram observados períodos de 105 a 177 dias, 20 a 165 dias em bovinos experimentalmente submetidos à espoliação por morcegos *Desmodus rotundus* infectados, 60 a 75 dias em bovinos mantidos em condição de campo e 25 a 611 dias em bovinos inoculados experimentalmente por via intramuscular. Em experimentos envolvendo inoculação intramuscular em caprinos e ovinos com amostras de vírus da raiva, obtido de raposa *Dusicyon vetulus*, do Nordeste brasileiro, o período de incubação variou de 17 a 18 dias. Em asininos, a inoculação com a mesma amostra apresentou um período de 92 a 99 dias e, em eqüinos, 179 a 190 dias.

O Código Sanitário para Animais Terrestres, da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), relata que o período de incubação da raiva é de 6 meses.

c) Disseminação:

A migração de vírus da raiva "via nervo" foi postulada por Morgagni em 1769. Após um período de incubação variável, seguido de replicação viral no tecido conjuntivo e muscular circunvizinhos no ponto de inoculação, a infecção se dissemina rapidamente alcançando o SNC. Em certas circunstâncias, as partículas podem penetrar diretamente nos nervos periféricos, sem replicação prévia nos tecidos não nervosos.

Experimentos de amputação realizados em animais comprovaram a transmissão da infecção via nervos periféricos. A replicação viral envolve vários passos: adsorção, penetração, desnudamento, transcrição, tradução, replicação do genoma, maturação e brotamento.

O receptor da acetilcolina (AChR) foi sugerido como importante elemento para a penetração das partículas de vírus nos axônios das junções neuromotoras, onde, por meio da glicoproteína, liga-se especificamente ao receptor, atingindo os nervos periféricos, progredindo centripetamente em direção ao SNC, seguindo o fluxo axoplasmático retrógrado, com deslocamento de 100-400mm por dia.

Durante o período de incubação, antes do comprometimento do SNC, a presença de vírus não pode mais ser evidenciada por métodos convencionais de diagnóstico e alguns pesquisadores denominam este período de "eclipse" viral. As partículas alcançam as células neuronais do tronco cerebral, hipocampo, tálamo, medula e do cerebelo. As lesões de poliencefalomielite rábica são caracterizadas pela infiltração perivascular de células mononucleares, gliose focal e regional e neuronofagia. A degeneração do neurônio, circundada por macrófagos e, ocasionalmente, por outras células inflamatórias, forma um núcleo de neuronofagia, denominado de nódulo de Babe. Eventualmente, a vacuolização produz o aparecimento de lesão esponjiforme na raiva. Ocorre também desmielinização. Agrupamentos de proteínas virais formando corpúsculos de inclusões intracitoplasmáticas, denominados de corpúsculos de Negri, são especialmente encontrados nos citoplasmas dos neurônios e células de Purkinje, no cerebelo.

A produção de interferon (IFN) foi demonstrada em vários experimentos de inoculação com vírus da raiva, porém a indução de altos títulos de IFN no cérebro não inibiu a replicação viral em camundongos.

d) Eliminação do vírus:

Alcançando o SNC e após intensa replicação, os vírus seguem centrifugamente para o sistema nervoso periférico e autônomo, alcançando órgãos como o pulmão, o coração, os rins, a bexiga, o útero, os testículos, o folículo piloso e, principalmente, as glândulas salivares, sendo eliminados pela saliva.

Na infecção natural, a estimulação dos linfócitos B para produção de anticorpos acontece tardiamente, após o aparecimento dos sintomas. A ação desses anticorpos é bloquear os vírus extracelulares, antes de alcançar o receptor das células musculares, inibindo a propagação no ponto de inoculação e a sua progressão até o SNC.

As alterações funcionais dos neurônios são moderadas pela imunidade mediada por linfócitos T e B ou por outros mecanismos de defesa inespecíficos não-ímmunes. A proliferação intensa de corpúsculos de inclusão dentro dos neurônios faz que as células nervosas sejam alteradas funcionalmente e com o comprometimento do sistema límbico, dando origem a alterações do comportamento.

Partículas virais podem ser identificadas na saliva dias antes da manifestação de sinais clínicos.

Aspectos Clínicos da Raiva

• Sinais Clínicos nos Herbívoros:

Passado o período de incubação, podem surgir diferentes sinais da doença, sendo a paralisia o mais comum, porém pode ocorrer a forma furiosa, levando o animal a atacar outros animais ou seres humanos.

Quando se trata de raiva transmitida por morcegos, não foram observadas diferenças acentuadas entre as manifestações clínicas nos bovinos, eqüinos, asininos, muares e outros animais domésticos de importância econômica, como caprinos, ovinos e suínos. O sinal inicial é o isolamento do animal, que se afasta do rebanho, apresentando certa apatia e perda do apetite, podendo apresentar-se de cabeça baixa e indiferente ao que se passa ao seu redor. Seguem-se outros sinais, como aumento da sensibilidade e prurido na região da mordedura, mugido constante, tenesmo, hiperexcitabilidade, aumento da libido, salivação abundante e viscosa e dificuldade para engolir (o que sugere que o animal esteja engasgado).

Com a evolução da doença, apresenta movimentos desordenados da cabeça, tremores musculares e ranger de dentes, midríase com ausência de reflexo pupilar, incoordenação motora, andar cambaleante e contrações musculares involuntárias.

Após entrar em decúbito, não consegue mais se levantar e ocorrem movimentos de pedalagem, dificuldades respiratórias, opistótono, asfixia e finalmente a morte, que ocorre geralmente entre 3 a 6 dias após o início dos sinais, podendo prolongar-se, em alguns casos, por até 10 dias.

Uma vez iniciados os sinais clínicos da raiva, nada mais resta a fazer, a não ser isolar o animal e esperar sua morte, ou sacrificá-lo na fase agônica. Como os sinais em bovinos e equinos podem ser confundidos com outras doenças que apresentam encefalites, é importantíssimo que seja realizado o diagnóstico laboratorial diferencial.

Nunca se deve aproveitar para consumo a carne de animais com suspeita de raiva. Partículas virais foram encontradas em níveis detectáveis no coração, pulmão, rim, fígado, testículo, glândulas salivares, músculo esquelético, gordura marrom, etc. de diferentes animais domésticos e silvestres.

A manipulação da carcaça de um animal raivoso oferece risco elevado, especialmente para os profissionais nos açougues, cozinheiros, ou funcionários da indústria de transformação de carnes. Deve-se ter extrema cautela ao lidar com animais suspeitos, pois pode haver perigo quando pessoas não preparadas manipulam a cabeça e o cérebro ou introduzem a mão na boca dos animais, na tentativa de desengasgá-los. Caso isso ocorra, deve-se procurar imediatamente um Posto de Saúde para atendimento.

A título de informação, descrevem-se os sintomas no ser humano, que ocorrem em três estágios:

- O primeiro estágio, o prodrômico, dura aproximadamente 2-10 dias, caracterizado por dor de cabeça, febre, náusea, fadiga e anorexia.

- No segundo estágio, ocorre a excitação sensorial ou a fase conhecida como "período neurológico agudo", que persiste por 2 a 7 dias. Ocorrem comportamentos bizarros, como extrema agressividade, ansiedade, insônia, aumento

da libido, formigamento, priapismo, hipersalivação, aerofobia, fotofobia, reação ao barulho, contração muscular, convulsões, hidrofobia, tendência de morder e de mastigar.

- O terceiro estágio é caracterizado por coma e paralisia, que pode durar de algumas horas a alguns dias, marcado pelo estado de confusão mental, alucinações, paradas cardíacas e respiratórias e paralisia do pescoço ou da região do ponto de inoculação. Entrando em coma, o paciente pode falecer em poucos dias.

- Nos casos de raiva humana associados à transmissão por morcegos, tem sido observada principalmente a sintomatologia paralítica da doença.

Humanos que apresentarem sintomas semelhantes aos relatados acima deverão SEMPRE ser encaminhados ao Serviço de Saúde mais próximo, devendo as autoridades de saúde ser imediatamente notificadas.

Período de Transmissão

Em cães e gatos, a excreção do vírus na saliva pode ser detectada de 2 a 4 dias antes do aparecimento dos sinais clínicos, persistindo durante toda a evolução da doença, que leva ao óbito. A morte do animal ocorre, em média, entre 5 a 7 dias após a apresentação dos sinais. Por isso, cães e gatos suspeitos devem ser observados por 10 dias, a partir da data da agressão.

Em relação aos animais silvestres, há poucos estudos sobre o período de transmissão, sabendo-se que varia de espécie para espécie. Há relato de eliminação de vírus da raiva na saliva, por um período de até 202 dias, em morcego *Desmodus rotundus*, sem sinais aparentes da doença.

Não se sabe exatamente o período durante o qual os herbívoros podem transmitir a doença. Embora algumas espécies de herbívoros não possuam uma dentição adequada que permita causar ferimentos profundos, há relatos de raiva transmitida aos seres humanos por herbívoros. Assim, é recomendado que não se introduzam as mãos na boca de qualquer espécie animal com sinais nervosos sem o uso de equipamentos de proteção apropriados.

No Código Sanitário para os Animais Terrestre da OIE, o período de infecciosidade da raiva em carnívoros domésticos começa 15 dias antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos e termina com a morte do animal.

Profilaxia

Consiste principalmente na imunização dos animais susceptíveis.

No caso dos herbívoros, deve-se seguir a orientação já descrita neste manual e na Instrução Normativa nº 5, considerando o controle populacional do *Desmodus rotundus*, como outras ações profiláticas da raiva.

No caso de cães e gatos, observar as normas estipuladas pelo Ministério da Saúde.

Tratamento

Não há tratamento e a doença é invariavelmente fatal, uma vez iniciados os sinais clínicos.

Somente para o ser humano, as vacinas antirrábicas são indicadas para tratamento pós-exposição. Há também o recurso da aplicação de soro antirrábico homólogo (HRIG) ou heterólogo. A imunidade passiva, conferida pela imunoglobulina anti-rábica, persiste, no máximo, por apenas 21 dias.

Diagnóstico

- Clínico:

A observação clínica permite levar somente à suspeição da raiva, pois os sinais da doença não são característicos e podem variar de um animal a outro ou entre indivíduos da mesma espécie. Não se deve concluir o diagnóstico de raiva somente com a observação clínica e epidemiológica, pois existem várias outras doenças e distúrbios genéticos, nutricionais e tóxicos nos quais os sinais clínicos compatíveis com a raiva podem estar presentes, conforme pode ser observado no Anexo VI.

- Diagnóstico laboratorial:

Não existe, até o momento, um teste diagnóstico laboratorial conclusivo antes da morte do animal doente que expresse resultados absolutos. No entanto, existem procedimentos laboratoriais padronizados internacionalmente, para amostras obtidas post mortem de animais ou humanos suspeitos de raiva. As técnicas laboratoriais são aplicadas

preferencialmente nos tecidos removidos do SNC. Fragmentos do hipocampo, tronco cerebral, tálamo, córtex, cerebelo e medula oblongata são tidos tradicionalmente como materiais de escolha.

- Técnicas diagnósticas:

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado utilizando principalmente dois tipos de procedimentos de rotina:

a) Identificação imunológica do antígeno viral:

a.1) Teste de imunofluorescência direta:

O teste mais amplamente utilizado para o diagnóstico da raiva é de imunofluorescência direta (IFD), recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE). Este teste pode ser utilizado diretamente numa impressão de tecido feita em lâmina de microscopia, ou ainda para confirmar a presença de antígeno de vírus da raiva em cultura celular.

O teste de IFD apresenta resultados confiáveis em poucas horas, quando realizados em amostras frescas, em 95-99% dos casos. Para o diagnóstico direto, as impressões preparadas do hipocampo, cerebelo e medula oblongata são coradas com um conjugado específico marcado com substância fluorescente (anticorpos anti-rábiticos + isotiocianato de fluoresceína). No teste de IFD, os agregados específicos da nucleocapside são identificados pela fluorescência observada. A IFD pode ser aplicada em amostras conservadas em glicerina, após repetidas operações de lavagem.

b) Isolamento viral:

Este teste detecta a infecciosidade da amostra, por meio de inoculação da suspensão de tecidos extraídos da amostra suspeita, em sistemas biológicos, permitindo o “isolamento” do agente. É utilizado concomitantemente ao teste de IFD, conforme preconizado pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1996).

b.1) Teste de inoculação em camundongo:

Um grupo de camundongos com idade entre 3 e 4 semanas ou neonatos de 2 a 5 dias de idade são inoculados intracerebralmente. Os camundongos adulto-jovens são observados por 30 dias e todo camundongo morto é examinado por meio da IFD. Para apressar o resultado da inoculação de camundongos neonatos, recomenda-se o sacrifício de um camundongo por vez, aos 5, 7, 9 e 11 dias pós-inoculação, seguidos da realização da IFD. O teste de isolamento in vivo em camundongos é oneroso e deve ser substituído, sempre que possível, por isolamento em cultivo celular.

b.2) Teste em cultura celular:

A linhagem celular preconizada para esse tipo de teste é de células de neuroblastoma murino (NA-C1300). A replicação do vírus é revelada pela IFD. O resultado do teste é obtido 18 horas pós-inoculação. Geralmente a incubação é continuada por 48 horas e, em alguns laboratórios, por até 4 dias. Este teste é tão sensível quanto o teste de inoculação em camundongos. Uma vez existindo a unidade de cultura celular no laboratório, este teste deve substituir o teste de inoculação em camundongos, evitando assim o uso de animais, além do fato de ser menos oneroso e mais rápido.

Outros testes de identificação que não são adotados como rotina estão descritos no site do Mapa (www.agricultura.gov.br).

Distribuição

Distribuição, Morbidade, Mortalidade e Letalidade

A Raiva causada pelos vírus do gênero *Lyssavirus*, genótipo I, está presente em todos os continentes, com exceção da Oceania. Alguns países das Américas (Uruguai, Barbados, Jamaica e Ilhas do Caribe), da Europa (Portugal, Espanha, Irlanda, Grã-Bretanha, Países Baixos e Bulgária) e da Ásia (Japão) encontram-se livres da doença. Entretanto, determinados países da Europa (França, Inglaterra) e da América do Norte (EUA e Canadá) enfrentam ainda problemas quanto ao ciclo silvestre da doença. Os dados sobre a morbidade e mortalidade constituem uma única informação, uma vez que a doença apresenta 100% de letalidade nas espécies de animais incluídos no Código Sanitário para os Animais Terrestres da OIE

No Brasil, a Raiva pode ser considerada endêmica, em grau diferenciado de acordo com a região geopolítica, com notificação de 34.044 mil casos de Raiva em diferentes espécies animais, no período de 1995-2005. Na ausência de laboratório de diagnóstico em alguns estados brasileiros, é inegável que em muitas regiões a Raiva esteja sendo

subnotificada ou confundida por outras enfermidades. A ocorrência da Raiva em animais silvestres é registrada de maneira esporádica, uma vez que não é comum o envio de materiais destes animais ao laboratório de diagnóstico, nem mesmo para fins de vigilância epidemiológica.

Bibliografia

ALBAS, A.; DE LUCCA, C.I.; QUEIROZ DA SILVA, L.H.; BERNARDI, F.; ITO, F.H. (1999). Influence of canine brain decomposition on laboratory diagnosis of rabies. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.32, n.1, p.19-22.

BADRANE, H.; TORDO, N. (2001) Host switching in Lyssavirus history from the chiroptera to the carnivore orders. *Journal of Virology*, v. 75, n. 17, p.8096 – 8104.

BAER G.M. (1991). *The Natural History of Rabies*, Second Edition. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 620 pp.

BARRAT J., BARRAT M.J., PICARD M. & AUBERT M.F.A. (1986). Diagnostic de la rage sur culture cellulaire, comparaison des résultats de l'inoculation au neuroblastome murin et de l'inoculation à la souris. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 11, 207-214.

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

BOURHY H., KISSI B. & TORDO N. (1993). Molecular diversity of the lyssavirus genus. *Virology*, 194, 70-81.

BOURHY H., ROLLIN P.E., VINCENT J. & SUREAU P. (1989). Comparative field evaluation of the fluorescent antibody test, virus isolation from tissue culture, and enzymes immunodiagnosis for rapid laboratory diagnosis of rabies. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 519-523.

CARRIERI, M. L. Diagnóstico laboratorial da Raiva em eqüídeos e implicações no tratamento humano pós-exposição. 2004. 100 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.

CLIQUET F., SAGNE L., SCHEREFFER J.L. & AUBERT M.F.A. (2000). ELISA tests for rabies antibody titration in orally vaccinated foxes sampled in the fields. *Vaccine*, 18, 3272-3279.

FEKADU M., SHADDOCK J.H., SANDERLIN D.W. & SMITH J.S. (1988). Efficacy of rabies vaccines against Duvenhage virus isolated from European house bats (*Eptesicus serotinus*), classic rabies virus and rabies-related viruses. *Vaccine*, 6, 533-539.

GENOVESE M.A. & ANDRAL L. (1978). Comparaison de deux techniques utilisées pour le diagnostic de la rage: l'immunofluorescence et l'immunoperoxydase. *Rec. Med. Vet.*, 154 (7-8), 667-671.

GOLDWASSER R.A. & KISSLING R.E. (1958). Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 98, 219-223.

HOOPER P.T., LUNT R.A., GOULD A.R., SAMARATUNGA H., HYATT A.D., GLEESON L.J., RODWELL B.J., RUPPRECHT C.E., SMITH J.S. & MURRAY P.K. (1997). A new lyssavirus - the first endemic rabies-related virus recognised in Australia. *Bull. Inst. Pasteur*, 95, 209-218.

ITO, M.; ITOU, T.; SHOJI, Y.; SAKAI, T.; ITO, F.H.; ARAI, Y.T.; TAKASAKI, T.; KURANE, I.(2003). Discrimination between dog-related and vampire bat-related rabies viruses in Brazil by strain-specific reverse transcriptase-polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *Journal of Clinical Virology*, 26: 317-330.

KIENY M.P., LATHE R., DRILLIEN R., SPEHNER D., SKORY S., SCHMITT D., WIKTOR T., KOPROWSKI H. & LECOCQ J.P. (1984). Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. *Nature*, 312, 163-166.

MEGID, J.; ITO, F.H. (1990). Detecção do antígeno rábico através das provas de imunofluorescência e imunoperoxidase direta em camundongos experimentalmente inoculados, sacrificados em fase assintomática e agônica. *Braz. J. vet. res. anim. Sci.*, S. Paulo, v.27, n.2, 187-192.

MORAIS, N. B.; ROLIM, B. N.; CHAVES, H. H. M.; BRITO-NETO, J.; SILVA, L. M. (2000). Rabies in tamarins (*Callithrix jacchus*) in the State of Ceará, Brazil, a distinct viral variant? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 95 (5), p. 609-610.

PERRIN P., GONTIER C., LECOQ E. & BOURHY H. (1992). A modified rapid enzyme immunoassay for the detection of rabies and rabies related viruses: RREID-Lyssa. *Biologicals*, 20, 51-58

PERRIN P., LAFON M., VERSMISSE P. & SUREAU P. (1985). Application d'une méthode immunoenzymatique au titrage des anticorps antirabiques neutralisants en cultures cellulaires. *J. Biol. Stand.*, 13, 35-42.

PERRIN P., ROLLIN P.E. & SUREAU P. (1986). A rapid rabies enzyme immuno-diagnosis (RREID) useful and simple technique for the routine diagnosis of rabies. *J. Biol. Stand.*, 14, 217-222.

RUDD R.J. & TRIMACHI C.V. (1987). Comparison of sensitivity of BHK-21 and murine neuroblastoma cells in the isolation of a street strain rabies virus. *J. Clin. Microbiol.*, 25, 145-168.

SCHAEFER, R.; BATISTA, H. B. R.; RIJSEWIJK, F. A. M.; FRANCO, A. C.; KING, A. A.; ROEHE, P. M. Antigenic and genomic characterization of brazilian rabies virus isolates. In: Seminário Internacional de Raiva – Centenário do Instituto Pasteur (Programa e resumos). São Paulo 5 -7 agosto de 2003

SHIRAKAWA, R. K. Ensaio sobre inoculação intramuscular e alimentação de gatos domésticos (*Felis catus*) com cérebros de camundongos previamente inoculados com vírus da Raiva. 2003. 56 f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.

SILVA, R. A.; BRECKENFELD, S. G. B. (1968). Ocorrência da Raiva em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1815). Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuária do Centro-Sul. EPE, Ministério da Agricultura. Boletim Técnico nº 70, Separata da Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.03.

SMITH J.S., YAGER P.A. & BAER G.C. (1973). A rapid reproducible test for determining rabies neutralizing antibody. *Bull. WHO*, 48, 535-541.

SOARES, R.M.; BERNARDI, F.; SAKAMOTO, S.M.; HEINEMANN, M.B.; CORTEZ, A.; ALVES, L.M.; MEYER, A.D.; ITO, F.H.; RICHTZENHAIN, L.J.(2002). A heninested

polymerase chain reaction for the detection of Brazilian rabies isolates from vampire bats and herbivores. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 97(1):109-111.

SOUZA, M. C. A. M. Infecção experimental de morcegos hematófagos *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy) mantidos em cativeiro pela ingestão de sangue desfibrinado acrescentado de amostras de vírus da Raiva. 2003. 90 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.

TORRES, S.; QUEIROZ LIMA, E.(1935). A Raiva e sua transmissão por morcegos hematófagos infectados naturalmente. *Revista do Departamento Nacional de Produção Animal*. Publicação oficial do ministério da Agricultura, Ano II, Nos. 1, 2 e 3.

UIEDA, W.; HARMANI, N. M.; SILVA, M. M. (1995). Rabies in insectivorous (Mollossidae) bats of southeastern Brazil. *Revista da Saúde Pública*, v. 29, n. 5, p. 393-397.

UMOH J.U. & BLENDEN D.C. (1981). Immunofluorescent staining of rabies virus antigen in formalin fixed tissue after treatment with trypsin. *Bull. WHO*, 59, 737-744.

VASCONCELLOS, M.E.P.; VASCONCELLOS, S.A.; CÔRTEZ, J.A.; ITO, F.H. (1993). Laboratory diagnosis of rabies by the fluorescent antibody test applied to brain tissues of experimentally inoculated mice ant either preserved in formalin or under refrigeration. *Braz. J. vet. res. anim. Sci.*, S. Paulo, v.30, n.1, 21-24.

WIKTOR, T. J.; KOPROWSKI, H. (1980). Antigenic variants of rabies virus, *Journal of Experimental Medicine*, v. 152, nº 1, p. 99 – 112.

WORLD HEALTH ORGANISATION (1996). *Laboratory Techniques in Rabies*, Fourth Edition, Meslin F.-X., Kaplan M.M. & Koprowski H., eds. WHO, Geneva, Switzerland.

WORLD HEALTH ORGANIZATION EXPERT COMMITTEE ON RABIES. Eighth Report (1992). *World Health Organisation Technical Report Series No. 824*, 84 pp.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO workshop on genetic and antigenic molecular epidemiology of Lyssaviruses. Geneva World Health Organization Veterinary Public Health Unit, 1994. p.7.

WHO – WORD SURVEY OF RABIES, 32 – For the year, 1996 – Diseases surveillance and control. WHO/EMC/ZDI/98.4, 1996.

WHO – WORD SURVEY OF RABIES, 35 – For the year, 1999 – Diseases surveillance and control. WHO/EMC/ZDI/98.4, 1999.

Wunner, W.H. Rabies Virus. In Jacteson, A. C.; Wunner, W.H. Immunology. Eds Rabies – Academic Press, London, p. 23-76, 2002.