

DANIELLE BASTOS ARAUJO

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DO VÍRUS DA RAIVA EM MAMÍFEROS
SILVSTRES PROVENIENTES DE ÁREA DE SOLTURA NO LITORAL
NORTE DO ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/ Instituto Butantan/IPT, para obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia

Área de Concentração: Biotecnologia

Orientador: Dr^a Silvana Regina Favoretto Lazarini

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2012

RESUMO

ARAUJO, D. B. **Estudo epidemiológico do vírus da raiva em mamíferos silvestres provenientes de área de soltura no litoral Norte do Estado de São Paulo, Brasil.** 2012, 104f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

A raiva é uma enfermidade infecto-contagiosa de caráter zoonótico responsável por milhares de mortes de seres humanos e animais em todo o mundo. A crescente importância do ciclo silvestre, envolvendo morcegos e mamíferos terrestres, demonstra a importância do estudo da epidemiologia do vírus da raiva nessas espécies; a fim de se determinar melhores estratégias de profilaxia e controle da enfermidade. O estudo de amostras provenientes de diversas espécies de animais silvestres terrestres procedentes de uma área de Mata Atlântica nativa no litoral Norte do Estado de São Paulo, se apresentou como uma excelente oportunidade para a pesquisa do vírus da raiva nessas espécies animais na região. Este estudo pesquisou a presença de anticorpos contra o vírus da raiva por meio do Teste Rápido de Inibição de Foco de Fluorescência (RFFIT), Microteste Simplificado de Inibição da Fluorescência (SFIMT) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) em amostras de soro de animais capturados em uma área de construção de um condomínio residencial e transpostos e monitorados em uma área de soltura. E ainda a detecção do vírus da raiva por meio das técnicas de Imunofluorescência Direta (IFD), Inoculação Intracerebral em Camundongos (IC) e Reação em Cadeia pela Polimerase precedida de transcrição (RT-PCR) em amostras de sistema nervoso central dos animais encontrados mortos na região. A porcentagem de amostras reagentes observada foi de 10,8% no RFFIT (considerada como “padrão ouro” para a detecção de anticorpos neutralizantes contra o vírus da raiva), 34,0% no SFIMT e 1,13% no ELISA. Todas as amostras submetidas às técnicas de IFD, IC e RT-PCR apresentaram resultados negativos. Os resultados observados são uma evidência de circulação do vírus entre as espécies silvestres (especialmente gambás, macacos-prego e quatis) da área estudada. Estes resultados comprovam a importância de constantes estudos objetivando o entendimento e o monitoramento do papel de espécies silvestres na circulação e transmissão do vírus da raiva no Brasil. Assim como a relevância de pesquisas direcionadas a um melhor entendimento, padronização e validação das diferentes técnicas diagnósticas; levando em especial consideração a grande e única variedade de espécies animais presente em nosso país.

Palavras-chave: Raiva. Diagnóstico. Sorologia, Epidemiologia. Mamíferos Silvestres. Brasil.

ABSTRACT

ARAUJO, D.B. **Epidemiologic study of rabies virus in wild mammals from a release area, North coast of São Paulo State, Brazil.** 2012, 104p. Ph. D. Thesis (Biotechnology). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Rabies is a zoonotic viral disease that causes thousands of humans and animals deaths each year worldwide. The emergent importance of the disease in wild animals, bats and terrestrial mammals, demonstrates the importance of epidemiological studies regarding rabies virus in those animal species, aiming the development of better strategies of prevention and control of the disease. The use of samples from several wild species from a native Rainforest area in the North coast of São Paulo State Brazil, was an excellent opportunity for the research of rabies virus circulation among wildlife in the region. The aim of the present study was the research of anti-rabies antibodies in those animals using the “Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test – RFFIT, Simplified Fluorescent Inhibition Microtest – SFIMT and Enzyme Linked Immunosorbent Assay – ELISA techniques. And also by rabies virus detection using Fluorescent Antibody Test (FAT), Mouse Inoculation Test (MIT) and Polymerase Chain Reaction by Reverse-Transcriptase (RT-PCR) in central nervous system samples from animals found dead in the area. The percentage of reagent samples observed was 10,8% on RFFIT (“gold standard” for detection of rabies virus neutralizing antibodies), 34,0% on SFIMT e 1,13% on ELISA. All samples tested by the FAT, MIT and RT-PCR techniques presented negative results. The observed results are an evidence of rabies virus circulation between the wild animal species (mainly opossums, capuchin-monkey and coati) in the studied area. This result indicates the importance of continuous research regarding a better knowledge of the role presented by wild animals in rabies circulation and transmission in Brazil. Epidemiologic studies in different regions of the country could provide valuable information to the prevention and control of the disease. And also researches aiming the padronization and validation of the different diagnostic serologic techniques, especially when considering the great and unique variety of animals present in our country.

Key words: Rabies. Diagnosis. Serology. Epidemiology. Wild mammals. Brazil.

1 INTRODUÇÃO

A raiva é uma enfermidade de origem viral, sintomatologia nervosa e praticamente 100% de letalidade. Ocorre em mais de 150 países e territórios, apresenta caráter zoonótico e é responsável anualmente por cerca de 55.000 mortes e 10 milhões de tratamentos pós-expositivos de seres humanos em todo o mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

No Brasil, o controle do ciclo urbano da raiva, por meio de campanhas de vacinação de cães e gatos e demais ações de vigilância e controle da enfermidade, associado as modificações ambientais provocadas pela intervenção humana permitiram a identificação de diferentes espécies animais atuando como reservatório e transmissoras do vírus; além da observação de um aumento no número de diagnósticos e acidentes com espécies anteriormente identificadas. Os casos de raiva em seres humanos decorrentes de acidentes com espécies silvestres (morcegos hematófagos, sagüis e carnívoros terrestres) nas regiões Norte e Nordeste do país e a notificação de casos de morcegos positivos para a enfermidade encontrados em áreas urbanas da região Sudeste comprovam este fato. Os estudos da raiva envolvendo espécies silvestres no Brasil podem fornecer informações valiosas para a determinação das variantes virais envolvidas e os possíveis reservatórios, permitindo o desenvolvimento e a implementação de métodos de profilaxia e controle da raiva eficientes.

A Mata Atlântica constitui o bioma mais rico em biodiversidade do planeta, possui 1.300.000km² atinge 15% do território nacional englobando 17 Estados Brasileiros, incluindo o de São Paulo. Somado a magnitude desse números, um outro dado modifica a percepção sobre a imensidão desse bioma: cerca de 93% de sua formação original já foi devastada. Obviamente, a maior ameaça ao já precário equilíbrio desta biodiversidade é justamente a ação humana e a pressão de sua ocupação e os impactos de sua atividade(SOS Mata Atlântica, 2012).

Para a construção de um condomínio no município de Bertioga, em uma área de Mata Atlântica nativa no litoral Norte do Estado de São Paulo foi realizada a transposição de espécies de fauna e flora para uma área de soltura de animais silvestres no mesmo município (Fazenda Acaraú). As atividades de transposição foram

realizadas com autorização do Instituto Brasileiro e dos Recursos Naturais - IBAMA para as atividades de transposição e para o projeto de pesquisa em questão. A captura, manejo e o estudo de impacto ambiental realizados em diversas espécies de mamíferos silvestres se apresentaram como uma excelente oportunidade para a pesquisa da possível presença do vírus da raiva na região e determinação das espécies animais envolvidas; especialmente por se tratar de uma situação única, onde foi possível comparar uma área de mata atlântica com ocorrência de desmatamento e uma área de conservação ambiental. Essa pesquisa foi realizada por meio da identificação de anticorpos contra o vírus da raiva nos animais destinados à transposição e nos animais monitorados na área de soltura, além da pesquisa do antígeno viral em amostras de sistema nervoso central provenientes dos animais encontrados mortos nas duas áreas.

7 CONCLUSÕES

- Foi observada evidência de circulação do vírus da raiva entre os mamíferos silvestres provenientes da área de Mata Atlântica nativa estudada.
- A detecção de anticorpos neutralizantes para o vírus da raiva por meio da técnica de RFFIT é um indicativo da circulação do vírus na região estudada, especialmente entre gambás, macacos-prego e quatis.
- A técnica de SFIMT apresentou boa sensibilidade, porém a especificidade e concordância foram mais baixas em relação a RFFIT para as espécies silvestres provenientes da área estudada.
- A técnica de ELISA utilizada apresentou baixa concordância em relação as técnicas de RFFIT e SFIMT nas espécies silvestres provenientes da área estudada.
- O vírus da raiva não foi detectado nos animais estudados por meio das técnicas de IFD, IC e RT-PCR.
- Futuros estudos utilizando as diferentes técnicas para a detecção de anticorpos contra o vírus da raiva em animais silvestres podem fornecer uma informação valiosa para o melhor estudo da raiva nessas espécies.
- Os testes sorológicos disponíveis necessitam ser reavaliados para a utilização em amostras de diferentes espécies animais não submetidas a vacinação.
- Os resultados obtidos comprovam a importância de constantes estudos de monitoramento e controle da raiva silvestre no Brasil e a necessidade da continuidade de pesquisas dessa natureza.

REFERÊNCIAS*

- ALBAS, A.; CAMPOS, A. C. A.; ARAUJO, D. B.; RODRIGUES, C. S.; SODRE, M. M.; DURIGON, E. L.; FAVORETTO, S. R. Molecular characterization of rabies virus isolated from non-haematophagous bats in Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 44, n. 6, p. 678-683, 2011.
- ALMEIDA, M. F. **Prevalência de anticorpos anti-rábicos neutralizantes em animais silvestres terrestres do município de São Paulo.** 1988 - (Tese de Doutorado) Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- ALMEIDA, M. F.; MASSAD, E.; AGUIAR, E. A. C.; MARTORELLI, L. F. A.; JOBERT, A. M. S. Neutralizing antirabies antibodies in urban terrestrial wildlife in Brazil. **J. Wild. Dis.**, v. 37, n. 2, p. 394-398, 2001.
- ALMEIDA, M. F.; MARTORELLI, L. F.; AIRES, C. C.; SALLUM, P. C.; DURIGON, E. L.; MASSAD, E. Experimental rabies infection in haematophagous bats *Desmodus rotundus*. **Epidemiol. Infect.**, v. 133, n. 3, p. 523-527, 2005.
- ALMEIDA, M. F.; MARTORELLI, L. F. A.; SODRÉ, M. M.; KATAOKA, A. P. A.; ROSA, A. R.; OLIVEIRA, M. L.; AMATUZZI, E. Rabies diagnosis and serology in bats from the State of São Paulo, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 44, n. 02, p. 140-145, 2011.
- ARAI, Y. T.; YAMADA, K.; KAMEOKA, Y.; HORIMOTO, T.; YAMAMOTO, K.; YABE, S.; NAKAYAMA, M.; TASHIRO, M. Nucleoprotein gene analysis of fixed and street rabies virus variants using RT-PCR. **Arch. Virol.**, v.142, n.9, p.1787-1796, 1997.
- ARAUJO, D. B.; LANGONI H.; ALMEIDA, M. F.; MEGID, J. Heminested reverse-transcriptase polymerase chain reaction (hnRT-PCR) as a tool for rabies virus detection in stored and decomposed samples. **BMC Res. Notes**, v. 1, p. 17, 2008.
- ARAUJO, D. B. **Estudo epidemiológico do vírus da raiva em mamíferos silvestres provenientes de área de soltura no litoral Norte do Estado de São Paulo, Brasil.** 2012 - (Tese de Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- ARELLANO-SOTA, C. Vampire bat-transmitted rabies in cattle. **Rev. Infect. Dis.**, v. 10, n. 4, p. 707-709, 1988.
- BANERJEE, A. K. Transcription and replication of rhabdoviruses. **Microbiol. Rev.**, v. 51. n. 1, p. 66-87, 1987.
- BARTON, L.D.; CAMPBELL, J.B. Measurement of rabies-specific antibodies in carnivores by an enzyme-linked immunosorbent assay. **J. Wild. Dis.**, v.42, n.2, p.246-258, 1988.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023:** informação e documentação - Referências - Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.
BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database.** Philadelphia, 1996. 468p.

BATISTA, H. H. C. R.; LIMA, F. E. S.; MALETICH, D.; SILVA, A. C. R.; VICENTINI, F. K.; ROEHE, L. R.; SPILKI, F. R.; FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Immunoperoxidase inhibition assay for rabies antibody detection. **J. Virol. Methods**, v.1 74, p. 65-68, 2011.

BEAMER, P. D.; MOHR, C. O.; BARR, T. R. Resistance of the opossum to rabies virus. **Am. J. Vet. Res.**, v. 21, p. 507-510, 1960.

BELÁK, S.; BALLAGI-PORDÁNY, A. Application of the polymerase chain reaction (PCR) in veterinary diagnostic virology. **Vet. Res. Commun.**, v. 17, p. 55-72, 1993.

BELLAN, S. E.; CIZAUSKAS, C. A.; MIYEN, J.; EBERSOHN, K.; KUSTERS, M.; PRAGER, K. C.; VAN VUUREN, M.; SABETA, C.; GETZ, W. M. Black-backed jackal exposure to rabies virus, canine distemper virus, and *Bacillus anthracis* in Etosha National Park, Namibia. **J. Wild. Dis.**, v. 48, n. 2, p. 371-381, 2012.

BELOTTO, A.; LEANES, L. F.; SCHNEIDER, M. C.; TAMAYO, H.; CORREA, E. Overview of rabies in the Americas. **Virus Res.**, v. 111, p. 5-12, 2005.

BIGLER, W. J.; HOFF, G. L.; SMITH, J. S.; MCLEAN, R. G.; TREVINO, I. J. Persistence of rabies antibody in free-ranging racoons. **J. Infec. Dis.**, v. 148, n. 3, p. 610, 1983.

BLACK, E. M.; McELHINNEY, L. M.; LOWINGS, P. L.; SMITH, J.; JOHNSTONE, P.; HEATON, P. R. Molecular methods to distinguish between classical rabies and the rabies-related European bat Lyssaviruses. **J. Virol. Methods**, v. 87, p. 123-131, 2000.

BLANCOU, J.; MESLIN, F. X. Modified live-virus rabies vaccines for oral immunization of carnivores. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**, 4. Ed. Geneva, WHO, 1996, p. 324-331.

BOURHY, H.; KISSI, B.; TORDO, N. Molecular diversity of the *Lyssavirus* genus. **Virology**, v. 194, p. 70-81, 1993.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Raiva humana transmitida por morcegos no Estado do Pará e Maranhão**. 25 de outubro, 2005. Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_raiva.pdf> Acesso em: 17 Ago 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde, **Programa de controle, vigilância e profilaxia da raiva**, Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/programa_vigilancia_raiva_dados_parciais_11.pdf>. Acesso em :11 Mar 2012.

BRASIL, Ministério da Saúde, Portal da Saúde, **Raiva: Informações gerais sobre a doença**, disponível em:

< http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=32020 > Acesso em: 13 Maio 2012b.

BRIGGS, D. J.; SMITH, J. S.; MUELLER, F. L.; SCHWENKE, J.; DAVIS, R. D.; GORDON, C. R.; SCHWEITZER, K.; ORCIARI, L. A.; YAGER, P. A.; RUPPRECHT, C. E. A comparison of two serological methods for detecting the immune response after rabies vaccination in dogs and cats being exported to rabies-free areas. **Biologicals**, v. 26, p. 347-355, 1998.

CABRAL, C. C.; MORAIS, A. C. N.; DIAS, A. B. A. B.; ARAUJO, M. G.; MOREIRA, W. C.; MATTOS, G. L. M. Circulation of the rabies virus in non-hematophagous bats in the City of Rio de Janeiro, Brazil, during 2001 – 2010. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 45, n. 2, p. 180-183, 2012.

CAMPOS, A. C. A. **Estudo genético da variante do vírus da raiva mantida por populações de morcego hematófago *Desmodus rotundus***. 2011, (Tese de Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

CARNIELI, P. J.; BRANDÃO, P. E.; CARRIERI, M. L.; CASTILHO, J. G.; MACEDO, C. I.; MACHADO, C. I.; MACHADO, L. M.; RANGEL, N.; DE CARVALHO, V. A.; MONTEBELLO, L.; KOTAIT, I. Molecular epidemiology of rabies virus strains isolated from wild canids in Northeastern Brazil. **Virus Res.**, v. 120, p. 113-120, 2006.

CAREY, A. B.; MC LEAN, R. G. Rabies antibody prevalence and virus tissue tropism in wild carnivores in Virginia. **J. Wild. Dis.** v. 14, p. 487 – 491, 1975.

CASTILHO, J. G.; CARNIELI, P.; OLIVEIRA, R. N.; RAHL, W. O.; CAVALCANTE, R.; SANTANA, A. A.; ROSA, W. L. G. A.; CARRIERI, M. L.; KOTAIT, I. A Comparative study of rabies virus isolates from hematophagous bats in Brazil, **J. Wild. Dis.**, v. 46, n. 4, p. 1335-1339, 2010.

CATÃO-DIAS, J. L. Primatas do novo mundo. Em: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens (medicina veterinária)**, São Paulo: Rocca Brasil, 2006, p.358-377.

CELIS, E.; WIKTOR, T.; DIETZSCHOLD, B; KOPROWSKI, H. Amplification of rabies virus-induced simulation of human t-cell lines and clones by antigen-specific antibody. **J. Virol.** , v.56, p.436-433, 1985.

CHARLTON, K. M.; CASEY, G. A. Experimental oral and nasal transmission of rabies virus in mice. **Can. J. Comp. Med.**, v. 43, n. 1, p. 10-15, 1979.

CHAVES, L. B.; MAZUTTI, A. L. C.; G. M. M. CAPOLARE; SCHEFFER, K. C.; SILVA, A. C. R. Rabies virus neutralizing antibodies: comparison of two evaluation tests in cell culture. IN: **Anais da XVII Reunião Internacional de Raiva nas Américas – RITA XVII**, p. 161, 2006.

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

CLIQUET, F.; MULLER, T.; MUTINELLI, F.; GERONUTTI, S.; BROCHIER, B.; SELHORST, T.; SCHEREFFER, J.; KRAFFT, N.; BUROW, J.; SCHAMEITAT, A.; SCHLUTER, H.; AUBERT, M. Standardisation and establishment of a rabies ELISA test in European laboratories for assessing the efficacy of oral fox vaccination campaigns. **Vaccine**, v. 21, p. 2986 – 2993, 2003.

CLIQUET, F.; McELHINNEY, L. M.; SERVAT, A.; BOUCHER, J. M.; LOWINGS, J. P.; GODDARD, T.; MANSFIELD, K. L.; FOOKS, A. R. Development of a qualitative indirect ELISA for the measurement of rabies virus-specific antibodies from vaccinated dogs and cats. **J. Virol. Meth.**, v. 117, p.1-8, 2004.

COX, J. H. I.; DIETZSCHOLD, B.; SCHNEIDER, L. G. Rabies virus glycoprotein: Biological and serological characterization. **Infect. Immunol.**, v. 16, p. 485-499, 1977.

CUNHA, M. S. C.; LARA, M. C. C. S. H.; NASSAR, A. F. C.; ALBAS, A.; SODRÉ, M. M.; PEDRO, W. A. Bat rabies in the north-northwestern regions of the State of São Paulo, Brazil: 1997-2002. **Rev. Saúde Pública**, v. 40, n. 6, p. 1082-1086, 2006.

DEAN, D. J.; ABELSETH, M. K.; ATANASIU, P. The fluorescent antibody test. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**, 4th ed., Geneva, WHO, 1996, p. 99-95.

DE MATTOS, C. C.; DE MATTOS, C. A.; LOZA-RUBIO, E.; AGUILAR-SETIEM, A.; ORCIARI, L. A.; SMITH, J. S. Molecular characterization of rabies virus isolates from México: implications for transmission dynamics and human risk. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 61, n. 4, p. 587-597, 1999.

DEEM, L. S.; DAVIS, R.; PACHECO, L. F. Serologic evidence of nonfatal rabies exposure in a free-ranging oncilla (*Leopardus tigrinus*) in Cotapata National Park, Bolivia. **J. Wild. Dis.**, v. 40, n. 4, p. 811-815, 2004.

DIETZSCHOLD, B.; KOPROWSKI, H. Rabies transmission from organ transplant in the USA. **Lancet**, v. 364, p.649-649, 2004.

DREESEN, D. W. Animal vaccines. In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W. H. **Rabies**, 2^a Ed., Londres, Elsevier, 2007, p.517-530.

EAST, M. L.; HOFER, H.; COX, J. H.; WULLE, U.; WIJK, H.; PITRA, C. Regular exposure to rabies virus and lack of symptomatic disease in Serengeti spotted hyenas. **Proc. Nat. Acad. Sci, USA**, v. 98, n. 26, p. 15026-15031, 2001.

FAVI, M.; DE MATTOS, C. C.; YUNG, V.; CHALA, E.; LOPEZ, L. R.; DE MATTOS, C. C. First case of human rabies in Chile caused by an insectivorous bat virus variant. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 8, n. 1, p. 79-81, 2002.

FAVORETTO, S. R.; CARRIERI, M. L.; TINO, M. S.; ZANETTI, C. R.; PEREIRA, O. A. Simplified fluorescent inhibition microtest for the titration of rabies neutralizing antibodies. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 35, n. 2, p. 171-175, 1993.

FAVORETTO, S. R.; DEMATTOS, C. C.; MORAIS, N. B.; ARAUJO, A. A.; DEMATTOS, C. A. Rabies in Marmosets (*Callithrix jachus*), Ceará, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 7; n. 6; p., 2001.

FAVORETTO, S. R.; CARRIERI, M. L.; CUNHA, E. M.; AGUIAR, E. A.; SILVA, L. H.; SODRÉ, M. M.; SOUZA, M. C.; KOTAIT, I. Antigenic typing of Brazilian rabies virus samples isolated from animals and humans, 1989-2000. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 44, n. 3, p. 91-95, 2002.

FAVORETTO, S. R.; MARTORELLI, L. F.; ELKHOURY, M. R.; ZARGO, A. M.; DURIGON, E. L. Rabies virus detection and phylogenetic studies in samples from an exhumed human. **Clin. Infect. Dis.**, v. 41, n. 3, p. 413-414, 2005.

FAVORETTO, S. R.; DE MATTOS, C. C.; MORAIS, N. B.; CARRIERI, M. L.; ROLIM, B. N.; SILVA, L. M.; RUPPECHT, C. E.; DURIGON, E. L.; DE MATTOS, C. A. Rabies virus

maintained by dogs in humans and terrestrial wildlife in Ceará state, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v.12, n. 12, p. 1978-1981, 2006.

FEHLNER-GARDINER, C.; RUDD, R.; DONOVAN, D.; SLATE, D.; KEMPF, L.; BADCOCK, J. Comparing Onrab® and Raboral V-RG® oral rabies vaccine field performance in racoons and striped skunks, New Brunswick, Canada and Maine, USA. **J. Wild. Dis.**, v. 48, n. 1, p. 157-167, 2012.

FERRAZ, C.; ACHKAR, S. M.; KOTAIT, I. First report of rabies in vampires bats (*Desmodus rotundus*) in an urban area, Ubatuba, São Paulo State, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 49, n. 6, p. 389-390, 2007.

FEYSSAGUET, M.; DACHEUX, L.; AUDRY, L.; COMPOINT, A.; MORIZE, J. L.; BLANCHARD, I.; BOURHY, H. Multicenter comparative study of a new ELISA, Platelia™ Rabies II, for the detection and titration of anti-rabies glycoprotein antibodies and comparison with the rapid fluorescent inhibition test (RFFIT) on human samples from vaccinated and non-vaccinated people. **Vaccine**, v. 25, p. 2244-2251, 2007.

FORTHOFFER, R. N.; LEE, E. S.; HERNANDEZ, M. Analysis of categorical data In: **Biostatistics: a guide to design, analysis and discovery**, 2: ed. London: Elsevier, 2007, p.269-296.

FOWLER, M. E. Order *Marsupialia* (Opossums). In: FOWLER, M. E.; PEDERSEN, D. **Zoo and Wild Animal Medicin**, W.B. Sauder Company, 1986.

GAIA Consultoria e Gestão Ambiental, São Paulo, S.P., 2011.

GAUDIN, Y.; TUFFEREAU, C.; SEGRETAİN, D.; KNOSSOW, M.; FLAMAND, A. Reversible conformational changes and fusion activity of rabies virus glycoprotein. **J. Virol.**, v. 65, n. 9, p 4853-4846, 1991.

GAYSCONE, S. C.; LAURENSEN, M. K.; LELO, S.; BORNER, M. Rabies in African wild dogs (*Lycaon pictus*) in the Serengeti region, Tanzania. **J. Wild. Dis.** v. 29, n. 3, p. 396-402, 1993.

GLUCK, R. Purified duck-embryo vaccine for humans. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**, 4 ed., Geneva, WHO, 1996, p.253-258.

GOOGLE: **Mapa da cidade de Bertioga, São Paulo**. EUA: Dados Catalográficos, Mapalinc, 2012. Disponível em < <http://www.mapas.guiamais.com.br/guia/bertioga-sp> > Acesso em: 14 Jun 2012.

HEINEMANN, M. B.; FERNADES-MATIOLI, F. M.; CORTEZ, A.; SOARES, R. M.; SAKAMOTO, S. M.; BERNARDI, F.; ITO, F. H.; MADEIRA, A. M.; RICHTZENHAIN, L. J. Genealogical analysis of rabies virus strains from Brazil based on N gene alleles. **Epidemiol. Infect.**, v. 128, n. 3, p. 503-511, 2002.

HILL, R. E.; BERAN, G. W.; CLARK, W. R. Demonstration of rabies virus-specific antibody in the sera of free-ranging Iowa raccoons (*Procyon lotor*). **J. Wild. Dis.**, v. 28, n.3, p. 377-385, 1992.

IAMAMOTO, K.; QUADROS, J.; QUEIROZ, L. H. Use of aspiration method for collecting brain samples for rabies diagnosis in small wild animals. **Zoon. Public. Health.**, v. 58, n. 1, p. 28-31, 2011.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2009>. Acesso em 17 de janeiro de 2012.

INSTITUTO PASTEUR. Programa Estadual de controle da raiva: Número de animais positivos para raiva por mês, município e espécie animal no Estado de São Paulo – Ano 2011. Disponível em:

<http://www.pasteur.saude.sp.gov.br/informacoes/Amostras_Positivas_para_Raiva_Animal_SP2011.pdf>. Acesso em: 20 Maio 2012.

JACKSON, A. C. Pathogenesis. In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W. H. **Rabies**, 2: ed, Londres: Elsevier, 2007, p. 341-382.

JENKINS, S. R.; PERRY, B. D.; WINKLER, W. G. Ecology and epidemiology of racoon rabies. **Rev. Infect. Dis.**, v. 14, n. 4, p. 620-625, 1988.

JOHNSON, N.; PHILLPOTTS, R.; FOOKS, A. R. Airborne transmission of lyssaviruses. **J. Med. Microbiol.**, v. 55. p. 785 – 790, 2006.

JOHNSON, N.; CUNNINGHAM, A. F.; FOOKS, A. R. The immune response to rabies virus infection and vaccination **Vaccine**, v. 28, p. 3896-3901, 2010.

JORGE, R .S. P.; PEREIRA, M. S.; MORATO, R. G.; SCHEFFER, K. C.; CARNIELI, P.; FERREIRA, F.; FURTADO, M. M.; KASHIVAKURA, C. K.; SILVEIRA, L.; JACOMO, A. T. A.; LIMA, E. S.; PAULA, R. C.; MAY-JUNIOR, J. A. Detection of rabies virus antibodies in brazilian free-ranging wild carnivores. **J. Wild. Dis.**, v. 46. n. 4, 2010.

KISSI, B.; TORDO, N.; BOURHY, H. Genetic polymorphism in the rabies virus nucleoprotein gene. **Virology**, v. 209, n. 2, p. 526-537, 1995.

KOPROWSKI, H. Visit to an ancient curse. **Sci. Am. Sci. Med.**, v. 2, p. 48-55, 1995.

KOPROWSKI, H. The mouse inoculation test In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**, 4. ed. Genebra: WHO, 1996, p.80-86.

KUZMIN, I. V.; MAYER, A. E.; NIEZGOA, M.; MARKOTTER, W.; AGWANDA, B.; BREIMAN, R.F.; RUPPRECHT, C. E. Shimoni bat virus, a new representative of the Lyssavirus genus. **Virus Res.** v. 6., p.197-210, 2010.

LAFON, M. Immunology. In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W. H. **Rabies**, 2: ed. Londres: Elsevier ,2007, p. 489 – 505.

LANGONI, H.; LIMA, K.; MENOZZI, B. D.; SILVA, R .C. Rabies in the big fruit eating bat *Artibeus lituratus* from Botucatu, southeastern Brazil. **J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.**, v. 11, n. 1, p. 84-87, 2005.

LAZARINI, S. R. F. **Estudo antigênico e genético de amostras de vírus da raiva isolado de humanos no Brasil – 1997-2003**. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

LORD, R .D.; DELPIETRO, H.; FUENZALIDA, E.; DIAZ, A. M. O.; LAZARO, L. Presence of rabies neutralizing antibodies in wild carnivores following an outbreak of bovine rabies. **J. Wild. Dis.**, v. 11, p. 210-213, 1975.

MACHADO, G. P.; PAULA ANTUNES, J. M.; UIEDA, W.; BIONDO, A. W.; ANDRADE, CRUVINEL, T. M.; KATAOKA, A. P.; MARTORELLI, L. F.; JORGE, D.; AMARAL, J. M.; HOPPE, E .G.; NETO, G. G.; MEGID, J. Exposure to rabies virus in a population of free-ranging capuchin monkey (*Cebus apella nigrilus*) in a fragmented, environmentally protected area in Southeastern Brazil. **Primates**, (Epub ahead of print), 2012.

MALTA, M. C. M.; LUPPI, M. M. Marsupialia – *Didelphimorphia* (Gambá – Cuíca). In: CUBAS, Z.S. **Tratado de Medicina de Animais Selvagens**, 2. Ed. , São Paulo, 2007, p. 340 – 357.

MEGID, J. Occurrence of rabies neutralizing antibodies in wild deer (*Blastocerus dichotomus*) from the western region São Paulo Estate, Brasil. **The International J. Vet. Med.**, 2000, Disponível em < <http://www.priory.com/vet/deer.htm> >. Acesso em: 21 Mar 2012.

MESLIN, F. X.; KAPLAN, M .M. General considerations in the production and use of brain-tissue and purified chicken-embryo vaccines for human use. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**, 4. ed. Genebra: WHO, 1996, p. 221-228.

MILLER, D. S.; COVELL, D. F.; MCLEAN, R. G.; ADRIAN, W. J.; NIEZGODA, M.; GUSTAFSON, J. M.; RONGSTAD, O. J.; SCHULTZ, R. D.; KIRK, L. J.; QUAN, T. J. Serologic survey for selected infectious diseases in swift and kit foxes from the western United States. **J. Wild. Dis.**, v. 36, n. 4, p. 798-805, 2000.

MOORE, S. M.; HANLON, C. A. Rabies-specific antibodies: measuring surrogates of protection against a fatal disease. **Plos Negl. Trop. Dis.** , v. 4, n. 3, p. 1-6, 2010.

MOORE, S. M.; CHANDRA, R. G.; BRIGGS, D. J. Rabies Serology In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W. H. **Rabies**, 2ª Ed. Londres, Elsevier, 2007, p.471-488.

MORK, T.; BOHLIN, J.; FUGLEI, E.; ASBAKK, K.; TRYLAND, M. Rabies in the arctic fox population, Svalbard, Norway. **J. Wild. Dis.**, v. 47, n. 4, p. 945-957, 2011.

NEUBERT, A.; SCHUSTER, P.; VOS, A.; POMMERENING, E. Immunogenicity and efficacy of the oral rabies vaccine SAD B19 in foxes. **J. Vet. Med.**, v. 48, p. 179-183, 2001.

NICHOLSON, K. G. Cell-culture vaccines for human use: general considerations. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**, 4 ed. Genebra: WHO, 1996.

NOORDHUIZEN, J. P.; FRARKENA, K.; VAN DER HOOFD.; GRAAT, E. A. M. **Application of quantitative methods in veterinary epidemiology**. Wageningen, 1997.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE ANIMALE. Rabies. In: **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2009**. Cap. 2. 1. 13, p. 304-323. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2008/pdf/2.01.13_RABIES.pdf. Acesso em: 15 Abr 2012.

OLIVEIRA, R. N.; SOUZA, S. P.; LOBO, R. S.; CASTILHO, J. G.; MACEDO, C. I.; CARNIELI, P. J.; FAHL, W. O.; ACHKAR, S. M.; SCHEFFER, K. C.; KOTAIT, I.; CARRIERI, M. L.; BRANDÃO, P. E. Rabies virus in insectivorous bats: implications of the diversity of the nucleoprotein and glycoprotein genes for molecular epidemiology. **Virology**, v. 405, n. 2, p. 352-360, 2010.

PASSOS, E. C.; GERMANO, P. M. L.; FEDULLO, J. D. L.; Resposta immune humoral em macacos-prego (*Cebus apella*) mantidos em cativeiro, após a revacinação com vacina anti-rábica Fuenzalida e Palácios modificada de uso veterinário. **Bras. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 39, p. 181-188, 2002.

PHILIPPA, J.; CHAMBRILLON-FOURNIER, C.; FOURNIER, P.; SCHAEFTENAAR, W.; VAN DE BILT, M.; HERWEIJNEN, R.; KUIKEN, M.; DITHARRY, S.; JOUBERT, L.; OSTERHAUS, A. Serologic survey for selected viral pathogens in free-ranging European mink (*Mustela lutreola*) and other mustelids from south-western France. **J. Wild. Dis.** v. 44, n. 4, p. 791-801, 2008.

PRINGLE, C. R. The order mononegavirales. **Arch. Virol.**, v.117, p.137-140, 1991.

QUEIROZ, L. H.; FAVORETTO, S. R.; CUNHA, E. M. S.; CAMPOS, A. C. A.; LOPES, M. C.; CARVALHO, C.; IAMAMOTO, K.; ARAUJO, D. B.; VRNDITTI, L. L.; RIBEIRO, E. S.; PEDRO, A. W.; DURIGON, E. L. Rabies in southeast Brazil: a change in the epidemiological pattern. **Arch. Virol.**, v. 157, p. 93-105, 2012.

RAMOS, P. M.; RAMOS, P. S. Acidentes humanos com macacos em relação a tratamentos profiláticos para a raiva, no Município de São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 6, p. 575-577, 2002.

RAMSDEN, R. O.; JOHNSTON, D. H. Studies of the oral infectivity of rabies virus in Carnivora. **J. Wild. Dis.** v. 11, p. 312-324, 1975.

ROMJIM, P. C.; VAN DER HEIDE, R.; CATTANEO, C. A. M. Study of Lyssaviruses of bat origin as a source of rabies for other animal species in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 69, n. 1, p. 81-86, 2003.

ROSA, E. S. T.; KOTAIT, I.; BARBOSA, T. F. S. Bat-transmitted human rabies outbreaks, Brazilian Amazon. **Emerg. Infect. Diseases**, v. 12, n. 8, p. 1197-1202, 2006.

ROSATTE, R. C.; GUNSON, J. R. Presence of neutralizing antibodies to rabies virus in striped skunks from areas free of skunk in Alberta. **J. Wild. Dis.** v. 20, n. 03, p. 171-176, 1984.

RUDD, R. J.; TRIMARCHI, C. V. Development and evaluation of an in vitro virus isolation procedure as a replacement for the mouse inoculation test in rabies diagnosis. **J. Clin. Microbiol.**, v. 27, n. 11, p. 2522-2528, 1989.

RUPPRECHT, C. E.; HANLON, C. A.; KOPROWSKI, H. General considerations in the use of recombinant rabies vaccines for oral immunization of wildlife. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**, 4 ed., Geneva, WHO, 1996, p.341 - 346.

RUPPRECHT, C. E.; HANLON, C. A.; HEMACHUDHA, T. Rabies re-examined. **Lancet Infect. Dis.**, v. 2, p. 327-343, 2002.

RYLANDS, A. B.; VALLADARES-PÁDUA, C.; SILVA, R. R.; BOERE, V.; CATÃO-DIAS, J. L.; PISSINATI, A.; GUIMARÃES, M. A. B. V. Order Primates (Primates). In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, medicine and surgery of south-american wild animals**, EUA: Isupress, 2001, p. 256-258.

SALAS-ROJAS, M.; SÁNCHEZ-HÉRNANDEZ, C.; ROMERO-ALMARAZ, M. L.; SCHNELL, G. D.; SCHMID, R. K.; AGUILAR-SETIÉN, A. Prevalence of rabies and LPM paramyxovirus antibody in non-hematophagus bats captured in the Central Pacific coast of Mexico. **Trans. R. S. Trop. Med. Hyg.**, v. 98, p. 577-584, 2004.

SCHAEFER, R.; CALDAS, E.; SCHMIDT, E.; KING, A. A.; ROCHE, P. M. First case of cat rabies in southern Brazil for 11 years. **Vet. Rec.**, v. 16, p. 216, 2002.

SCHNEIDER, M. C.; BELOTTO, A.; ADÉ, M. P.; HENDRICKX, S.; LEANES, M. J.; MEDINA, G.; CORREA, E. Current status of human rabies transmitted by dogs in Latin America. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, n. 9, p. 2049-2063, 2007.

SERVAT, A.; LABADIE, A.; HAMEN, A.; HOUE, F.; CLIQUET, F. Inter-laboratorial trial to evaluate the reproductibility of a new ELISA to detect rabies antibodies in vaccinated domestic and wild carnivores. **Biologicals**, v. 36, p. 19-26, 2008.

SHANKAR, V.; O'SHEA, T. J.; RUPPRECHT, C. E.; BOWEN, R. A. Rabies seroprevalence in a commensal population of big brown bats in Colorado. In: XII International Meeting on Research Advances and Rabies Control in the Americas, **Anais**, p. 64, Ciudad de Oaxaca, Mexico, 2002.

SILVA, M. V.; XAVIER, S. M.; MOREIRA, W. C.; SANTOS, B. C.; ESBÉRARD, C. E. Rabies virus in *Nyctinomops laticaudatus* bats in the City of Rio de Janeiro: isolation, titration and epidemiology. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, n. 4, p. 479-481, 2007.

SLATE, D.; ALGEO, T. P.; NELSON, K. M.; CHIPMAN, R. B.; DONOVAN, D.; BLANTON, J. D.; NIEZGODA, M.; RUPPRECHT, C. E. Oral rabies vaccination in North America: opportunities, complexities and challenges. **Plos Negl. Dis.**, v. 3, n. 12, p. 1-9, 2009.

SMITH, J. Mouse model for abortive rabies infection of the central nervous system. **Infect. Immunol.** v. 31, p. 297-308, 1981.

SMITH, J. S.; ORCIARI, L. A.; YAGER, P. A.; SEIDEL, H. D.; WARNER, C. K. Epidemiologic and historical relationships among 87 rabies virus isolates as determined by limited sequence analysis. **J. Infect. Dis.**, v. 166, n. 2, p. 296-307, 1992.

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

SMITH, J. S.; YAGER, P. A.; BAER, G. M. A rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) for determining rabies virus-neutralizing. Em: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**. 4 ed., Geneva: WHO, 1996, p.181-192.

SODRÉ, M. M.; GAMA, A. R.; ALMEIDA, M. F. Updated list of bats species positive for rabies in Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 52, n. 2, p. 75-81, 2010.

SOS Mata Atlântica. Mata Atlântica Disponível em:
<<http://www.sosmatatlantica.org.br/index.php?section=info&action=mata>>. Acesso: 03 Maio 2012.

TEIXEIRA, R. H. F.; AMBROSIO, S. R. *Carnivora – Procyonidae* (Quati, Mão-pelada e Jupará). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L.: **Tratado de Animais selvagens – medicina veterinária** 2: ed. São Paulo: Rocca, 2007, p.571-583.

THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. 2: ed. London: Butterworth, 1986, 280p.

TORDO, N.; POCH, C.; ERMINE, A.; KEITH, G. Primary structure of leader RNA and nucleoprotein genes of the rabies genome: Segmented homology with VSV. **Nucleic Acids Res.**,v. 14, p .2671-2683, 1986a.

TORDO, N.; POCH, O.; ERMINE, A.; KEITH, G.; ROUGEON, F. Walking along the rabies genome: is the large G-L intergenic region a remnant gene? **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 83, n.11, p. 3914-3918, 1986b.

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

TRIMARCHI, C. V.; NADIN-DAVIS, S. A. Diagnostic evaluation. In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W. H. **Rabies**, 2^o ed., Londres: Elsevier, 2007, p.411-469.

TURMELLE, A. S.; ALLEN, L. C.; SCHMIDT-FRENCH, B. A.; JACKSON, F. R.; KUNZ, T. H.; MCCRACKEN, G. F.; RUPPRECHT, C. E. Response to vaccination with a commercial inactivated rabies vaccine in a captive colony of brazilian free-tailed bats (*Tadarida brasiliensis*). **J. Wild. Dis.**, v. 41, n. 1, p. 140-143, 2010.

VENGUST, G.; HOSTNIK, P.; CEROVSEK, M.; CILENSEK, P.; MALOVRH, T. Presence of antibodies against rabies in wild boars. **Acta Vet. Hung.**,v. 59, n. 1, p. 149-154, 2011.

WARNER, C. K.; ZAKI, S. R.; SHIEH, W.; WHITFIELD, S. G.; SMITH, J. S.; ORCIARI, L. A.; SHADDOCK, J. H.; NIEZGODA, M.; WRIGHT, C. W.; GOLDSMITH, C. S.; SANDERLIN, D. W.; YAGER, P. A.; RUPPRECHT, C. G. Laboratory investigation of human deaths from vampire bat rabies in Peru. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 60, n. 3, p. 502-507, 1999.

WARREL, M. J. Human deaths from cryptic bats in the USA. **Lancet**, v. 364, p. 65-66, 1995.

WASNIESKI, M.; CLIQUET, F. Evaluation of ELISA for detection of rabies antibodies in domestic carnivores. **J. Virol. Met.** , v.179, n. 1, p. 166-175, 2011.

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

WORLD HEALTH ORGANIZATION Expert Committee on Rabies. **Rabies: Fact Sheet N°99**. Geneva: WHO, 2011. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en>>. Acesso em: 09 Fev 2012.

WOLDEHIWET, Z. Rabies: recent developments. **Res. Vet. Sci.**, v. 73, p. 17-25, 2002.

WUNNER, W. H.; REAGAN, K. J.; KOPROWSKI, H. Characterization of saturable binding sites for rabies virus. **J. Virol.**, n. 50, p. 691-697, 1984.

WUNNER, W.H. Rabies Virus In: JACKSON, A. C.; WUNNER, W.H. **Rabies**, 2. ed. Londres: Elsevier, 2007, p. 23-69.

ZALAN, E.; WILSON, C.; PUKITIS, D.A. A microtest for the quantification of rabies neutralizing antibodies. **J. Biol. Standardization**, v. 7, p. 213-220, 1979.