UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA

Benedito Donizete Menozzi

Infecção pelo vírus rábico em quirópteros no município de Botucatu, São Paulo e região, no período de 2003 a 2018

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Tit. Helio Langoni

Botucatu
2019

Benedito Donizete Menozzi

Infecção pelo vírus rábico em quirópteros no município de Botucatu, São Paulo e região, no período de 2003 a 2018

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Tit. Helio Langoni

Botucatu
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Menozzi, Benedito Donizete.
Infecção pelo vírus rábico em quirópteros no município de Botucatu, São Paulo e região, no período de 2003 a 2018 / Benedito Donizete Menozzi. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Professor Helio Langoni
Capes: 40101096

1. Vírus da hidrofobia. 2. Saúde pública. 3. Zoonoses. 4. Morcego.

Palavras-chave: Quirópteros; Raiva; Saúde Pública; Zoonoses.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Benedito Donizete Menozzi

Título: Infecção pelo vírus rábico em quirópteros no município de Botucatu, São Paulo e região, no período de 2003 a 2018.

Defesa de Tese para obtenção do Título de Doutorado
Faculdade de Medicina de Botucatu, Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais

Orientador: Prof. Dr. Helio Langoni

Comissão examinadora

_____	_____
Profª. Drª. Jane Megid	Prof. Dr. Cassiano Victória
FMVZ – Unesp – Botucatu/SP	FMVZ – Unesp – Botucatu/SP
_____	_____
Drª. Juliana G. C. Kawai	Dr. Avelino Albas
Instituto Pasteur – São Paulo/SP	Apta – Presidente Prudente/SP

Botucatu, _____ de _____de_____.

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus, por ter a oportunidade de fazer o que gosto, com quem gosto, no melhor lugar.

A todos os companheiros desses anos todos no laboratório, funcionários, residentes e pós-graduandos, todos contribuíram de alguma maneira para o crescimento do lugar onde trabalhamos e pesquisamos.

Aos responsáveis e servidores da Vigilância Ambiental em Saúde do município de Botucatu, desde o inicio a parceria foi um sucesso.

Agradecimento especial ao Prof. Helio, sem o qual esse momento não ocorreria.

Como especial também foi o auxílio profissional da Dr[a] Laís Moraes Paiz, nos mapas e no georreferenciamento, e pela disposição, sempre que as dúvidas apareciam. E tão importante quanto, foi o apoio do dia a dia, incondicional, às vezes até altas horas da madrugada. Para você Laís, todo meu agradecimento em forma de carinho pelo companheirismo e pelo amor mútuo que conquistamos.

A minha família e as irmãs em especial, Inês, Cleide e Lenita.

Por fim, dedico ao meu filho, Felipe, que está prestes a iniciar sua vida acadêmica. Todas as experiências são bem-vindas Fe, as que consideramos boas, e até as que não gostamos muito.

A história desse trabalho se confunde com a minha história no laboratório e todos os projetos que eu acompanhei ao longo desses 16 anos, foram inspiração para essa tese.

Obrigado a todos.

RESUMO

Menozzi, BD. **Infecção pelo vírus rábico em quirópteros no município de Botucatu, São Paulo e região, no período de 2003 a 2018.** 2019. 100 f. Tese (Doutorado)– Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2019.

A vigilância epidemiológica para o vírus rábico (VR) tem como um dos seus pilares o diagnóstico laboratorial. Devido à mudança do perfil epidemiológico da Raiva nas últimas décadas, a vigilância passiva de quirópteros em áreas urbanas é de grande importância, tendo em vista que esses animais passaram a ocupar o papel de principais transmissores do vírus a humanos e animais no Brasil. O objetivo desse estudo foi fornecer um panorama sobre a situação epidemiológica da infecção por VR em quirópteros no município de Botucatu e região. Trata-se de um estudo descritivo de dados epidemiológicos de vigilância passiva, com base no diagnóstico de Raiva em quirópteros no período de 2003 a 2018, realizado no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ) da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Campus de Botucatu. Um total de 4.271 quirópteros foram submetidos ao SDZ por 42 municípios da região de Botucatu, São Paulo. O diagnóstico de infecção pelo VR foi realizado utilizando-se a imunofluorescência direta e o isolamento viral em camundongos. Realizou-se um levantamento de informações referentes aos quirópteros positivos quanto ao local de recolhimento, ocorrência de sinais clínicos e de contato com outros animais ou homem. Foram elaborados mapas para ilustrar o local de recolhimento dos quirópteros positivos no município de Botucatu. O percentual de positividade em todo o período foi de 1,3% (57/4.281). O município de Botucatu foi responsável por 76,8% (3.289/4.271) das amostras de quirópteros recebidas em todo o período e por 70,2% (40/57) dos positivos. O percentual de positividade do município foi de 1,2% (40/3.289). Os 57 quirópteros positivos pertenciam a 11 gêneros e 12 espécies, distribuídos em três famílias: Molossidae, Vespertilionidae e Phyllostomidae. A maioria (71,9%; 41/57) dos quirópteros positivos tinha hábito alimentar insetívoro e não apresentou sinais clínicos de Raiva. Em 3,6% deles, entretanto, houve algum sinal clínico. Grande parte (66,7%; 38/57) dos quirópteros positivos foram encontrados em residências (área externa e interna). Em 8,8% (5/57) dos casos houve algum tipo de exposição direta (agressão) dos quirópteros infectados a pessoas e em 24,6% (14/57) a animais domésticos. No que se refere a vigilância passiva para infecção de VR em quirópteros, a obtenção e análise de dados epidemiológicos é importante, especialmente com a crescente população de quirópteros em áreas urbanas, o que se deve, dentre outros fatores, à degradação

ambiental. Esses dados devem servir de base para a tomada de decisão e adoção de estratégias de prevenção e controle da Raiva, além de auxiliarem no aperfeiçoamento da própria vigilância epidemiológica.
Palavras-chave: Raiva; morcegos; epidemiologia; vigilância epidemiológica.

ABSTRACT

Menozzi, BD. **Rabies Virus infection in bats in the city of Botucatu, São Paulo and region, from 2003 to 2018.** 2019 100 f. Thesis (Doctorate) – São Paulo State University (Unesp), Medical School, Botucatu, 2019.

Epidemiological surveillance for rabies virus (RV) has laboratory diagnosis as one of its pillars. Due to a change in the epidemiological profile of rabies in the last decades, passive surveillance of bats in urban areas is of great importance, considering that these animals have become the main transmitters of RV to humans and animals in Brazil. The objective of this study was to provide an overview of the epidemiological situation of RV infection in bats in the city of Botucatu and region. This is a descriptive study of epidemiological data on passive surveillance, based on the diagnosis of rabies in bats from 2003 to 2018, performed at the Zoonoses Diagnosis Service (SDZ) of the São Paulo State University at Botucatu. A total of 4,271 bats were submitted to SDZ by 42 municipalities in the region of Botucatu, São Paulo. The diagnosis of RV infection was made using direct immunofluorescence and the biological test. A survey of information regarding positive bats was performed, collection point data, occurrence of clinical signs and contact with other animals or man. Maps were elaborated to illustrate the location of positive bats in the municipality of Botucatu. The percentage of positivity in the period was 1.3% (57/4.281). The municipality of Botucatu was responsible for 76.8% (3,289/4,271) of the bats received in the period and 70.2% (40/57) of positive bats. The percentage of positivity of the municipality was 1.2% (40/3, 289). The 57 positive bats belonged to 11 genera and 12 species, distributed in three families: Molossidae, Vespertilionidae and Phyllostomidae. The majority (71.9%; 41/57) of the positive chiroptera had an insectivorous food habit and showed no clinical signs of rabies. However, in 3.6% of them there was the occurrence of some clinical sign. Most (66.6%; 38/57) of positive bats was found in residences (external and internal area). In 8.8% (5/57) of the cases there was some type of direct exposure (aggression) of infected bats to individuals and in 24.5% (14/57) to domestic animals. Regarding passive surveillance for RV infection in bats, the collection and analysis of epidemiological data is important, especially with the growing population of bats in urban areas, which is due, among other factors, to environmental degradation. These data should serve as a basis for decision-making and adoption of strategies for rabies prevention and control, as well as helping to improve epidemiological surveillance.
Keywords: Rabies; bats; epidemiology; epidemiological surveillance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Relação entre o número de amostras de quirópteros e o total de amostras de animais (todas as espécies) recebidas no período de 2003 a 2018 para diagnóstico de infecção pelo VR.....45

Figura 2 - Localização dos municípios com envio de amostras, negativas e positivas de quirópteros para a infecção pelo vírus da Raiva, no período de 2003 a 2018.....46

Figura 3 - Percentual de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR em municípios do GVE Bauru e GVE Botucatu, de acordo com os anos de recolhimento.....52

Figura 4 - Distribuição dos hábitos alimentares dos 40 quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR no município de Botucatu ao longo do período de 2003 a 2018.....54

Figura 5 - Percentual de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR no município de Botucatu, no período de 2003 a 2018.....55

Figura 6 - Localização do município de Botucatu no Estado de São Paulo e os locais de recolhimentos de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR, como parte das atividades de vigilância passiva da Raiva, no período de 2003 a 2018.....56

Figura 7 - Georreferenciamento de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR no município de Botucatu, de acordo com a espécie.....57

Figura 8 - Georreferenciamento de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR no município de Botucatu, de acordo com o ano de recolhimento.....58

Figura 9 - Distribuição temporal, por ano de recolhimento, de quirópteros positivos para infecção de VR no município de Botucatu no período de 2003 a 2018.....59

Figura 10 - Ocorrência de contato com quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR na região do município de Botucatu, São Paulo, de 2003 a 2018, de acordo com a ficha de encaminhamento ao laboratório.....63

Figura 11 - Informações sobre o local de recolhimento de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR na região do município de Botucatu, São Paulo, de 2003 a 2018, de acordo com a ficha de encaminhamento ao laboratório.....63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos quirópteros recolhidos em atividades de vigilância da Raiva e submetidos ao Serviço de Diagnóstico de Zoonoses, de acordo com o ano, município e GVE de recolhimento, além do resultado do diagnóstico de infecção pelo vírus da Raiva (VR).....47-52

Tabela 2 - Lista de quirópteros com diagnóstico positivo de infecção pelo vírus da Raiva na região de Botucatu, São Paulo.....53-54

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Dados epidemiológicos descritos nas fichas de encaminhamento de quirópteros positivos no diagnóstico da infecção pelo VR na região do município de Botucatu, São Paulo, no período de 2003 a 2018.....60-62

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 14

1.1. Raiva: definição e importância..... 14

1.2. O agente etiológico e suas características genéticas..... 14

1.3. História da Raiva e seus principais personagens, da antiguidade aos tempos atuais..... 16

1.4. Epidemiologia da Raiva no mundo..... 24

1.4.1. Raiva na Europa..... 24

1.4.2. Raiva na Ásia e na Austrália..... 26

1.4.3. Raiva na África..... 28

1.4.4. Raiva nas Américas..... 29

1.4.4.1. Raiva no Brasil..... 32

1.5. Diversidade de *Lyssavirus* em quirópteros..... 34

2. JUSTIFICATIVA..... 38

3. OBJETIVOS..... 40

3.1. Objetivo geral..... 40

3.2. Objetivos específicos 40

4. MÉTODOS..... 41

4.1. Amostras..... 41

4.2. Imunofluorescência direta (IFD)..... 41

4.3. Inoculação intracerebral em camundongos ou prova biológica..... 42

4.4. Análise dos dados..... 43

4.4.1. Análises exploratórias e descritivas..... 43

4.4.2. Mapeamento de morcegos positivos para o VR no município de Botucatu..... 43

5. RESULTADOS 45

6. DISCUSSÃO…….. 64

7. CONCLUSÕES.....……..... 77

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 79

9. ANEXOS..... 100

9.1. Anexo I: Atestado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)..... 100

1. INTRODUÇÃO

1.1. Raiva: definição e importância

A Raiva é uma zoonose viral negligenciada de grande importância em saúde pública e veterinária, já registrada em mais de 150 países e territórios, em cinco continentes, exceto na Antártida (WHO, 2018a).

A palavra Raiva deriva do latim *"rabies"*, e significa "fúria e delírio". Do sânscrito, a palavra *"rabhas"* significa "loucura e demência" (Steele e Fernandez, 1991). Os gregos denominavam de *"lyssa"* ou *"lyta"*, que significa loucura (Wilkinson, 2002).

Embora seja uma doença imunopreveníveI, estima-se que a Raiva cause mais de 60 mil óbitos humanos anualmente em todo o mundo, a grande maioria na África e na Ásia (WHO, 2013). O vírus da Raiva (VR) é mantido e transmitido por vários hospedeiros mamíferos, principalmente carnívoros e morcegos (Velasco-Villa et al., 2008).

A importância da Raiva para a saúde pública não se limita ao número de casos, mas se deve também à alta letalidade, que atinge quase 100% dos enfermos. Também é necessário considerar o impacto econômico da doença, pois aproximadamente dez milhões de pessoas/ano são submetidas à Profilaxia Pós-Exposição (PPE), gerando custos altíssimos (Anderson e Shwiff; Hampson et al., 2015).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima o custo econômico de doenças, incluindo a Raiva, por meio de estatísticas de saúde e sistemas de informação. O indicador "DALY" (*Disability Adjusted Life Years* ou anos de vida perdidos ajustados por incapacidade) mensura, simultaneamente, o efeito da mortalidade e dos problemas de saúde que afetam a qualidade de vida dos indivíduos (WHO, 2018b). Estima-se que, anualmente, a Raiva seja responsável por mais de dois milhões de DALY (Fooks et al., 2014), e o custo anual com a Raiva no mundo pode chegar a "124 bilhões de dólares" (Anderson e Shwiff, 2015).

1.2. O agente etiológico e suas características genéticas

O genoma do VR é constituído por ácido ribonucleico (RNA) de fita simples, não segmentada e de sentido negativo. Pertence à ordem Mononegavirales, família Rhabdoviridae, gênero *Lyssavirus.* Esse gênero de vírus forma um grupo monofilético distinto, baseando-se

em árvores de máxima verossimilhança bem sustentadas, inferidas a partir de sequências *L* completas (Rupprecht et al., 2002).

Os genomas de *Lyssavirus* contêm apenas cinco genes de proteínas estruturais (3'-*N*-*P*-*M*-*G*-*L*-5'), mas apresentam uma região 3' não traduzida muito longa, seguindo o RNA mensageiro de *G*. As partículas do VR mantêm uma estrutura de cerca de 60-110 nm x 130-250 nm, com um nucleocapsídio helicoidal interno de aproximadamente 50 nm de diâmetro, rodeado por uma fina membrana recoberta de proteínas (Rupprecht et al., 2002; ICTV, 2018).

As partículas do VR consistem em RNA (2% a 3%), proteína (67% a 74%), lipídios (20% a 26%) e carboidratos (3%). A molécula única de RNA de fita simples tem aproximadamente 11,9 a 12,3 kb de comprimento. O RNA está fortemente associado com a proteína *N* dentro da ribonucleoproteína (RNP). A organização básica e a reprodução são simples quando comparadas à de outros vírus (ICTV, 2018).

Os cinco genes monocistrônicos se relacionam com as cinco proteínas virais: o gene *N* codifica uma nucleoproteína que encapsula o RNA viral; o gene *P* produz uma fosfoproteína, que é importante não só na transcrição e replicação, mas também para interações com componentes proteicos celulares durante o transporte axoplásmico; o gene *M* codifica uma proteína de matriz; o gene *G* produz uma única glicoproteína, uma porção ligada à membrana que medeia a recepção e fusão nas superfícies celulares e serve como um alvo para a indução de anticorpos neutralizantes de vírus; e o gene *L* codifica uma polimerase para a síntese de RNA (Rupprecht et al., 2002; Masatani et al., 2013; ICTV, 2018).

Até o início da década de 1970, considerava-se o VR como uma unidade antigênica. A partir da década de 1980, baseando-se em propriedades antigênicas e imunogênicas, com o uso de anticorpos monoclonais, o vírus foi classificado em sete genótipos e dois filogrupos (Kotait et al., 2009). Recentemente, a classificação do vírus foi dividida em 16 genótipos/espécies distintos e uma subdivisão em dois filogrupos (ICTV, 2018), baseando-se em propriedades genéticas, por meio de relações filogenéticas.

O filogrupo I inclui: *Rabies Lyssavirus* (RABV), *Australian bat Lyssavirus* (ABLV), *Duvenhage Lyssavirus* (DUVV), *European bat Lyssavirus*-1 (EBLV-1) e 2 (EBLV-2), *Aravan Lyssavirus* (ARAV), *Khujand Lyssavirus* (KHUV), *Bokeloh bat Lyssavirus* (BBLV), *Irkut Lyssavirus* (IRKV) e *Gannoruwa bat Lyssavirus* (GBLV). O filogrupo II inclui: *Lagos bat Lyssavirus* (LBV), *Mokola Lyssavirus* (MOKV) e *Shimoni bat Lyssavirus* (SHIBV) (Gunawardena, et al., 2016). Os vírus mais divergentes no gênero, *West Caucasian bat*

Lyssavirus (WCBV), *Ikoma Lyssavirus* (IKOV) e *Lleida bat Lyssavirus* (LLBV), não são membros de nenhum desses filogrupos (Weyer et al., 2008; Horton et al., 2014; Marston et al., 2017).

O RABV é o mais amplamente distribuído mundialmente, por isso, o mais conhecido e estudado (Marston et al., 2007). Dentre esses genótipos/espécies, 14 têm os morcegos como seus potenciais reservatórios ou hospedeiros mais frequentemente infectados (ICTV, 2018).

Há reatividade cruzada antigênica, que se correlaciona com as distâncias genéticas relativamente curtas entre os *Lyssavirus*. Os antígenos da RNP, que são mais abundantes nas células infectadas, apresentam reação cruzada entre todos os membros do gênero descritos até o momento. Esta característica facilita a utilização de reagentes de diagnóstico padronizados para detecção de todos os *Lyssavirus*, por exemplo, por meio de ensaios de anticorpo fluorescente direto ou imuno-histoquímico (Rupprecht et al, 1991, 2017).

Em contraste, os antígenos glicoproteicos são relativamente conservados dentro de cada filogrupo (conservação do ectodomínio >75%), mas não quando comparados entre si (conservação do ectodomínio <65%). Como resultado, as vacinas e imunoglobulinas antirrábicas comercialmente disponíveis, que, respectivamente, induzem e fornecem anticorpos neutralizantes visando a glicoproteína, protegem contra *Lyssavirus* do filo I, mas não contra outros *Lyssavirus* (Fekadu et al., 1988; Bahloul et al., 1998; Badrane et al., 2001; Fooks, 2004; Hanlon et al., 2005).

1.3. História da Raiva e seus principais personagens: da antiguidade aos tempos atuais

A Raiva é uma doença conhecida desde o advento da civilização (Singh et al., 2017). Ao longo dos séculos, médicos clínicos, cirurgiões, veterinários, farmacêuticos, também escritores, filósofos e poetas mencionaram a Raiva em seus escritos. Baseado em evidências encontradas em antigos manuscritos gregos e chineses, o homem sabe desde a antiguidade que a Raiva é uma das doenças humanas mais perigosas relacionadas a cães (Théodoridès e Lépine, 1986; Steele e Fernandez, 1991).

A primeira documentação oficial da Raiva ocorreu no código de *Eshnunna*, na Mesopotâmia, no século XXI a. C. (Tarantola, 2017). Trata-se, também, de uma das primeiras referências à Raiva em cães (Tierkel, 1975) documentada, onde estão contidos os primeiros relatos de morte humana devido a mordeduras de cães raivosos (Baer, 2007).

Os primeiros a reconhecerem a Raiva como uma doença que afetava animais foram Demócrito (500 a. C.), que inicialmente descreveu o quadro clínico em cães, e Aristóteles (322 a. C.), que relata no livro 8, capítulo 22 da História Natural dos Animais, "…cães sofrem com a loucura. Isso faz com que eles se tornem muito irritáveis e todos os animais que eles mordam, fiquem doentes" (Wilkinson, 2002).

Também na Roma antiga, Caelius Aurelianus, médico e escritor, não acreditava que Demócrito distinguia claramente a hidrofobia de tétano e, de fato, a dificuldade diagnóstica permanece até hoje. Caelius creditou a Gaius (300 a.C.), médico que fez valiosas contribuições no conhecimento do sistema nervoso, a identificação "do cérebro e sua membrana" como as partes afetadas na Raiva (Wilkinson, 1988).

A prevenção primária de Raiva pela prevenção de mordidas por cães com suspeita de Raiva foi recomendada no "*Avesta*", livro das escrituras sagradas dos Persas, produzido entre 200-400 a. C. (Peterson, 1995).

Por volta de 60 a.C., Columella, escritor da Roma antiga, em um de seus livros da coletânea "*De Re Rustica*" descreveu o hábito dos pastores de cortar as caudas dos cachorros aos 40 dias de idade, como medida preventiva contra a Raiva em cães. Trata-se, talvez, de um dos primeiros exemplos conhecidos de Saúde Única, ou de "*One Medicine ou One Health*", que considera a prevenção de doenças em humanos como intimamente ligada à saúde dos animais aos quais eles estão expostos (Tarantola, 2017).

Aurelius Cornelius Celsus (25 a. C. a 50 d. C.), médico e escritor romano, estudou vários aspectos da Raiva, enfatizando a importância da saliva dos animais com Raiva na transmissão da doença a humanos. Considerou que outros animais, como gatos, macacos, o cão, e também humanos, poderiam transmitir a doença. Um dos métodos descritos por ele era a cauterização da ferida. Celsus descreveu, também, o método utilizado para combater a hidrofobia: "...quando a doença aparece, o único remédio é colocar o doente inesperadamente dentro de um tanque, fazendo com que ele possa beber água, desaparecendo ao mesmo tempo a sede e o medo da água" (Fleming, 1872). Estes procedimentos foram usados até os anos 1500 (Fleming, 1872; Wilkinson, 2002).

Pedianus Dioscorides, médico e farmacologista, foi um dos que com mais precisão descreveu a Raiva e, assim como Celsus, propôs a cauterização da ferida como prevenção (Tarantola, 2017).

Vários autores da antiguidade (400 a. C. a 20 d. C.), como Xenofontes, Virgílio, Horácio e Ovídio, relataram em suas obras aspectos sobre a transmissão da Raiva, como a infectividade da saliva dos cães raivosos e a importância do cão na transmissão da doença para os humanos. À época, acreditava-se que havia um "veneno" (em latim *"rote"*) na saliva dos animais com Raiva, que seria o responsável pela doença (Wilkinson, 2002; Baer, 2007).

Algumas opiniões iniciais, relatadas no "Talmud" (200-500 d. C.), livro que estruturava a lei judaica, sugeriram que a Raiva poderia ser causada por feitiços de bruxas ou espíritos malignos (Rosner, 1974). Avicena, ou Ibn Sina (980 a 1037 a. C.), mais influente filósofo do mundo islâmico pré-moderno, incluiu a sugestão de que a Raiva poderia surgir por meio de mudanças na temperatura ambiente, a mesma crença geral dos romanos (Jackson, 2013).

Durante a Idade Medieval, de 500 a 1500, inúmeros autores continuaram a descrever com precisão a doença em animais e humanos, incluindo a noção de Raiva paralítica (Blancou, 1994), em alguns casos, a ausência de hidrofobia ou um retardo dela, antes do início dos sintomas da Raiva em cães e em humanos, além de seu prognóstico lamentável e irreversível (Rosner, 1974).

Na Europa, a primeira descrição de Raiva silvestre é datada dos anos 900, quando um urso infectado saiu de um bosque, perto do porto de Lyon, na França, e atacou vinte lenhadores que tentaram contê-lo a pauladas. Em consequência das mordeduras, seis lenhadores desenvolveram Raiva e foram mortos por sufocamento, um dos procedimentos com que "piedosamente" se "resolviam" os casos de Raiva humana naquela época (Bravo, 1978).

Na Alemanha, o primeiro grande surto de Raiva foi descrito na região da Franconia em 1271, quando lobos infectados invadiram cidades e aldeias, atacando rebanhos, o que culminou com a morte de pelo menos 30 pessoas, por ferimentos e pela doença (Steele & Fernandez, 1991).

Bartholomew Glanville, professor de teologia que tem como obra mais importante um tratado de ciências naturais, "*De proprietatibus rerum*", em meados dos anos 1300, se referiu a um veneno "crescendo" e "multiplicando-se" em feridas por mordida. No final do mesmo século, Arnaldus de Villanova, um dos mais conceituados médicos da época, insistiu na importância da limpeza cuidadosa e completa da ferida como prevenção da Raiva após uma mordida de cachorro (Tarantola, 2017).

O papel potencialmente mortal da saliva foi “posto em prática” pelo general de artilharia polonês-lituano Kazimierz Siemienowicz, que numa primeira tentativa de guerra biológica, teria disparado conchas contendo saliva de cães raivosos em 1650 (Tarantola, 2017).

A Raiva continuou a preocupar populações e médicos do Renascimento. Julien Le Paulmier de Grentemesnil (1520-1588) escreveu sete livros de medicina, um deles, o livro 5, especificamente sobre Raiva (Nutton, 2011).

Nas Américas, a mais antiga descrição de morte humana associada à Raiva é a de ataques de morcegos hematófagos, ainda no tempo da conquista espanhola das Américas no século XVI (Ureña, 1950). Por outro lado, a Raiva canina era rara, quase totalmente ausente nas Américas Central e do Sul (Vos et al., 2011).

A Raiva transmitida por cães ocorria na Europa, na África e na Ásia (Nadin-Davis e Bingham, 2004), mais intensamente no Velho e no Novo Mundo, após os desembarques de navegadores europeus e seus cães (Wasik e Murphy, 2013). Nas Américas, o século XVIII foi marcado por intensas epizootias da Raiva e pela emergência da doença em muitas ilhas do Caribe, do Oceano Índico e América Latina (Bravo, 1978; Steele e Fernandez, 1991).

Na América Latina, a primeira associação entre morcegos hematófagos e epizootias de Raiva em animais de produção foi em 1910, no Brasil, mesmo ano em que ocorreu o primeiro relato de morte humana por mordidas de morcegos hematófagos na ilha de Trinidad (Carini, 1911).

Embora a ocorrência da Raiva tivesse aumentado, especialmente na Europa, inúmeros progressos estavam sendo alcançados no que diz respeito à prevenção de mordidas por cães em cidades europeias (Blancou, 1994). Leis que regulamentavam a manutenção de cães pelos proprietários, a contenção dos mesmos e o controle de cães errantes estavam sendo exitosos (Perrot, 2013).

Uma abordagem semelhante levou à eliminação da Raiva transmitida por cães na Dinamarca, Noruega e Suécia em 1826 (Rupprecht e Hanlon, 1997). Em uma comunicação de 1793, Samuel Bardsley, médico inglês, propôs a quarentena de cães locais e importados para “erradicar a Raiva nas Ilhas Britânicas” (Blancou, 1994).

A decisão de propor, discutir e elaborar um plano internacional para controlar a Raiva canina, foi tomada na 2ª Conferência Internacional de Veterinária em Viena, em 21 a 27 de

agosto de 1865. Cidades e estados legislaram, integrando e aplicando formas antigas do que hoje são princípios da abordagem "*One Health*" (Gamgee, 1866).

Nesse período, a compreensão da fisiopatologia da Raiva também evoluiu. Em 1546, Girolamo Fracastoro, médico e filósofo italiano, formulou a hipótese de que a Raiva era transmitida pela *semina* (sementes) presente na saliva (Childs e Real, 2007; DiMarco, 2014). Também nesse século, Fracastoro descreveu a Raiva furiosa em humanos (Ito e Megid, 2016). Martin Lister, médico e naturalista britânico, acrescentou, em 1698, que o risco de transmissão variava de acordo com o local anatômico da mordida (Jackson, 2013).

Joseph-Ignace Guillotin, médico e político francês, propôs, em 1766, que cães agressores permanecessem em observação por 15 dias para verificar o risco de transmissão da Raiva para uma vítima de mordida (Blancou, 1994). O médico e religioso holandês Barão de Van Swieten, em 1775, declarou que a saliva era a via de transmissão da Raiva e descreveu o quadro clínico em humanos, descrição que permanece relevante até o momento (Tarantola, 2017).

Em 1776 e 1793, respectivamente, tanto Guillotin quanto John Hunter, médico reverenciado como fundador na cirurgia experimental, propuseram experimentos de inoculação para melhor compreender a fisiopatologia da Raiva. Um desses experimentos era a mordida de cachorros infectados pelo vírus em prisioneiros que aguardavam a pena de morte (Blaisdell, 1995; Soubiran, 1981). Considerações semelhantes foram feitas por Louis Pasteur, expostas em uma carta ao Imperador do Brasil, datada de 22 de setembro de 1884, dez meses antes da vacinação pós-exposição de Joseph Meister. Os experimentos, entretanto, nunca foram postos em prática (Soubiran e Théodoridès, 1981; Arboleda-Flórez, 2005).

Até meados do século XIX, abordagens sem base científica alguma eram frequentemente adotadas, o que na verdade eram apenas sinais desesperados de tentativas de salvar pacientes (Swabe, 2004). Em 1830, em Londres, crianças mordidas por cães raivosos eram submetidas à cirurgia ou cauterização da ferida (Pemberton e Worboys, 2007). Pacientes clinicamente declarados com Raiva eram mergulhados em água fria ou óleo quente, ou eram sacrificados ao serem sufocados entre colchões, ou ainda levados a sangrar até a morte (Swabe, 2004).

Na virada do século XIX-XX, a abordagem científica melhorou a compreensão da fisiopatologia (Vos et al., 2011) e da epidemiologia clínica da Raiva, incluindo a imunização de animais (Pearce, 2002). Muitos trabalhos experimentais sobre a transmissão da Raiva e sua

prevenção foram realizados, incluindo o de Georg Zinke, pesquisador alemão, que por meio da aplicação da saliva de cães raivosos em tecidos de cães sadios, propôs a infecciosidade da saliva (Baer, 2007).

A tese foi reforçada pelo médico Gilbert Breschet e por François Magendie, considerado o pioneiro em experimentos sobre fisiologia, porém, com a saliva de humanos infectando cães (Théodoridès, 1978). Magendie, além disso, em 1842, suspeitou que o agente talvez não fosse um veneno, mas um "vírus" capaz de se multiplicar e se desenvolver no hospedeiro (Théodoridès, 1983). Considerava-se agora que esses agentes subiam progressivamente da ferida infectada para o cérebro, não por meio do sangue, mas pelos nervos, antes da difusão centrífuga (Babes, 1912; Théodoridès, 1983; Steele e Fernandes, 1991).

Pierre-Henri Dubuoé, médico e pesquisador francês, foi quem liderou os estudos com foco na trajetória do vírus pelo sistema nervoso, comunicando suas descobertas a Louis Pasteur em 12 de janeiro de 1881 (Rosset, 1985). Ele também postulou que o VR poderia ser destruído *in situ* ou impedido de atingir a medula oblonga (Dubail, 1985). Isso abriu o caminho para o advento da PPE, com base na noção de aproveitar o período de latência e construir rapidamente a imunidade do paciente, por meio de vacinação oportuna e adequada (Bazin, 2007; Tarantola, 2018).

Eusébio Valli, médico italiano, colocando as recomendações de John Hunter em prática (Blaisdell, 1995), afirmou ter realizado infecções experimentais e imunizado cães com sucesso, injetando saliva de outros cães, depois de submeter o material ao suco gástrico de rãs. Ele alegou ter inoculado essa mistura em, pelo menos, duas pessoas mordidas por um cão suspeito de Raiva, na cidade de Pisa, que por sua vez não contraíram a Raiva (Bellini et al., 2009). Se confirmado, isso tornaria Valli o criador da primeira vacina atenuada contra a Raiva, apesar dos pequenos números do experimento e da ausência de confirmação laboratorial, que não provariam a eficácia preventiva.

Apollinaire Bouchardat, farmacêutico da Faculdade de Veterinária de Lyon, é citado como tendo postulado, em 1850, que os cães poderiam ser imunizados contra a Raiva como uma medida de saúde pública (Rotivel et al., 2002). Fontes disponíveis de 1881 a 1884 descrevem a discussão de Bouchardat sobre a vacinação contra doenças infecciosas, citando o trabalho de Pasteur (Tarantola, 2017).

Em 1879, na Escola de Veterinária, também em Lyon, o professor e pioneiro de estudos sobre a infecção do vírus, Pierre-Victor Galtier, já inoculava o vírus em coelhos como forma de diagnóstico. Após a injeção cutânea de material obtido a partir de animal suspeito, o coelho era observado e, em caso positivo, no máximo em 15 dias ocorria paralisação e morte (Rosset, 1985). Galtier relatou, também, que inoculando material viral em ovelhas por via intravenosa, poderia protegê-las, mesmo se o animal fosse desafiado posteriormente, por meio de inoculação viral subcutânea. Nesse mesmo período, iniciaram-se os experimentos com a vacinação de cães (Tarantola, 2018; Rosset, 1985; Willians, 2010).

Todas essas informações e dúvidas chegavam à Louis Pasteur por meio de comunicações publicadas na Academia de Ciências de Paris e foram base importante para as pesquisas futuras (Rosset, 2003). Portanto, é neste contexto de pesquisa, já extremamente avançado, que Louis Pasteur e seus colegas da *École Normale Supérieure* em Paris começaram a aplicar seus métodos científicos sistemáticos e baseados em dados, ao estudo da Raiva, em dezembro de 1880 (Perrot, 2013).

Uma cepa de VR "fixo", adaptada, de "virulência extremada", com tempos de incubação mais curtos, poderia então ser selecionada por meio de passagens sucessivas em coelhos, abrindo caminho para uma abordagem experimental metódica. Depois de discutir, em 1881 (Fisher, 1995), Pasteur e sua equipe empenharam-se para desenvolver uma "vacina" canina em 1882. Posteriormente, em 1884, a técnica de dessecação, também desenvolvida por Emile Roux, foi utilizada para atenuar uma cepa altamente virulenta (Rappuoli, 2014).

A atenuação do VR foi, portanto, primeiramente validada pelos experimentos que Pasteur e sua equipe relataram em 1884, documentando a sobrevivência de cães vacinados por vacina viva atenuada, antes do desafio viral. A vacina prototípica contra a Raiva foi usada pela primeira vez como terapia de resgate em humanos que apresentavam sinais de Raiva clínica declarada, com falha rápida documentada em, pelo menos, uma tentativa, a da criança Antoinette Poughon, no final de junho de 1885 (Debré, 1994).

O caso mais conhecido que conta a história, relembra um menino de nove anos, Joseph Meister, atacado e mordido 14 vezes por um cão (Pasteur, 1885). Ele sofreu mordidas profundas na mão direita, coxas e pernas. O dono do cachorro, Théodore Vonné, também recebeu uma mordida no braço antes do cachorro ser baleado pela polícia, tendo a mordida não causado ferimento grave. Vonné não recebeu nenhuma profilaxia e sobreviveu (Rupprecht e Plotkin, 2013). É preciso lembrar que, apesar dos testes, havia muitas dúvidas sobre a vacina em humanos. Pasteur, ao receber o menino, titubeou algumas vezes antes do início do

tratamento, não sem antes colocar, de maneira categórica e metódica, todos os riscos da vacina em humanos (Tarantola, 2017).

Jacques-Joseph Grancher, pediatra, foi quem administrou por via subcutânea as primeiras doses de vacina viva atenuada em 6 de julho de 1885, às 20h, na presença de Louis Pasteur, que, como químico, não estava autorizado a realizar injeções. A primeira injeção foi derivada de medula espinhal de um coelho inoculado que morreu de Raiva em 21 de junho, 15 dias antes (Debré, 1994). Nos 10 dias que se seguiram, Joseph Meister recebeu 12 doses adicionais de vírus atenuado e progressivamente mais virulento, para gerar rapidamente uma resposta imune, numa tentativa de uma "corrida" contra o tempo (Babes, 1912; Jackson, 2013; Wasik e Murphy, 2013). Meister sobreviveu.

A pesquisa sobre o VR em si fez avanços rápidos. Em 1903, Adelchi Negri, médico bacteriologista italiano, descreveu a primeira interação VR-neurônio (Kristensson et al., 1996) e Lina Luzzani Negri, assistente honorário da Faculdade de Medicina e Cirurgia da Universidade de Pavia, e esposa de Adelchi, completaram o experimento e seu valor diagnóstico na infecção pelo VR "de rua" (Negri, 1913). O VR foi observado pela primeira vez em microscópio eletrônico no início dos anos 1960 (Almeida et al., 1962; Matsumoto, 1962).

As sínteses das proteínas do VR (mapeamento transcricional) foram descritas por Flamand e Delagneau (1978), e os genes virais que as codificam, sequenciados em sua totalidade (Tordo et al., 1988). Métodos de diagnósticos diretos e indiretos mais seguros e específicos foram desenvolvidos, e também houve avanços nas pesquisas que detalham o papel dos anticorpos na proteção contra a infecção (Meslin e Kaplan, 1996; Duong et al., 2016).

Maiores conhecimentos foram obtidos após os primeiros relatos de um sobrevivente humano, baseado no diagnóstico de Raiva clínica, sem o isolamento viral, após tratamento, principalmente no Novo Mundo após a exposição a morcegos (Hattwick et al., 1972; CDC, 2012).

Apesar dos avanços no conhecimento e prevenção da Raiva, e, excluindo-se alguns casos de recuperação conhecidos até o momento (Weyer, 2016), todos os pacientes documentados com Raiva clinicamente declarada morreram em poucas horas ou dias. Os esforços para testar alguns medicamentos tradicionais, na Etiópia, por exemplo, falharam

(Deressa, 2010a). Hoje, os antivirais estão sendo explorados como um recurso terapêutico, ainda com pouco sucesso (Yamada, 2016).

1.4. Epidemiologia da Raiva no mundo

A Raiva canina é definida como aquela mantida em ciclos de transmissão na espécie *Canis lupus familiaris* (cão doméstico). Um país é considerado livre de Raiva canina se não forem confirmados casos de transmissão por cão a qualquer mamífero, incluindo humanos e cães, há, pelo menos, dois anos (Ito e Megid, 2016; WHO, 2018c).

A Raiva canina foi eliminada da Europa Ocidental, Canadá, Estados Unidos da América (EUA), Japão e alguns países da América Latina. Austrália e muitas nações insulares do Pacífico sempre foram livres da Raiva transmitida por cães (WHO, 2018c). Esses países, entretanto, podem apresentar casos importados (Carrara et al., 2013), além de custos para manter-se livre da doença, aplicados à vigilância da transmissão endêmica do VR em vida selvagem e/ou quirópteros, à PPE (*Post-exposure prophylaxis*) e à profilaxia pré-exposição (PrEP), além de custos com a prevenção para pessoas que vivem ou viajam para áreas endêmicas para a Raiva transmitida por cães (Cliquet et al., 2014).

Há ainda, um tema com ampla discussão atual, que é o risco da possível adaptação do vírus em hospedeiros diferentes, o processo de *spillover*. Trata-se de processos sucessivos que permitem que um agente se estabeleça em outro táxon a partir de uma população de hospedeiros naturais (Hassel et al., 2017; Plowright et al., 2017).

1.4.1. Raiva na Europa

Em muitos países europeus, a Raiva continua sendo considerada uma doença endêmica grave em populações animais (Cliquet et al., 2014). A Raiva em cães foi progressivamente eliminada na virada do século XX da maioria dos países europeus, por meio de medidas de controle de cães, como captura e eutanásia, restrição de trânsito e uso de focinheira (Pastoret et al., 2004). Na década de 1940, o vírus dos cães domésticos se adaptou (*spillover*) à raposa vermelha (*Vulpes vulpes*) e se espalhou para o oeste e para o sul da fronteira russo-polonesa, e o restante da Europa, com um avanço estimado de 20 a 60 Km/ano (Cliquet et al., 2014).

Durante 2015 e 2016, nenhum caso humano de Raiva foi relatado nos países do Continente Europeu (CoE), ante seis casos humanos entre 2012 e 2014. Na maioria dos casos notificados a doença foi adquirida fora do CoE. Ainda assim, o risco de infecção permanece, principalmente na porção Oriental do continente, que abrange 25 países, onde nove apresentam Raiva em cães (ECDC, 2017; WHO, 2018a). Somente na Rússia, 22.264 casos de Raiva animal (49,0% animais selvagens, 30,0% animais domésticos, 19,9% animais de interesse zootécnico, 1,1% outros) e 67 casos de Raiva humana foram confirmados entre 2007 e 2011, além de cerca de 400 mil pessoas que entraram em contato com animais potencialmente raivosos e recebem PPE a cada ano (Poleschuk et al., 2012; Lvov et al., 2015).

A vacinação oral antirrábica com o uso de iscas provou eficiente para controlar e eliminar a Raiva terrestre em seu ciclo silvestre (Maki, et al., 2017). Novas linhagens e variantes do VR têm sido recentemente descobertas em morcegos, implicando na necessidade de pesquisas para avaliar a eficácia das vacinas atuais contra essas cepas e o possível processo de *spillover* para mamíferos terrestres (EFSA, 2015).

Enquanto a Raiva em cães e em animais silvestres terrestres ainda é a maior preocupação na parte oriental, nos países da Europa Ocidental os morcegos merecem grande destaque. Em 2016, as atividades de vigilância para outros *Lyssavirus* em morcegos incluíram um total de 1.405 morcegos testados e 49 (3,5%) casos positivos registrados em oito países diferentes, Alemanha (23), Holanda (9), França (6), Polônia (6), Reino Unido (2), Bélgica (1), Finlândia (1) e Espanha (1) (ECDC, 2017; ECDC, 2018).

Os *Lyssavirus* europeus (EBLV) tipo 1 e 2 de morcego, são geneticamente e fenotipicamente distintos um do outro. Morcegos insetívoros são os reservatórios/hospedeiros, com EBLV-2 adaptado às espécies *Myotis daubentonii* (*Daubenton's bat*) e *Myotis dasycneme*, e o EBLV-1 adaptado à espécie de morcego insetívoro *Eptesicus serotinus* (*Serotine bat*) (Fooks et al., 2003a).

Óbitos por EBLV 1, causados por *spillover* para humanos, já foram relatados na Ucrânia e Rússia (Fooks et al., 2003b) e por EBLV 2 no Reino Unido e Finlândia (Fooks et al., 2003b; Eggerbauer et al., 2017). Dois casos humanos não confirmados de Raiva na Europa envolveram a exposição a morcegos, no entanto, em ambos os casos, a presença do vírus não foi confirmada (Fooks et al., 2003a).

Entre 1985 e 2007, houve relatos de isolamentos de EBLV 1 em animais domésticos, como ovelhas em 1998 e 2002 na Dinamarca (Fooks et al., (2003b; Dacheux et al., 2009) e,

mais recentemente, em gatos na França em 2003 e 2007 (Dacheux et al., 2009), além de silvestres, em *Martes foina* (fuinha) na Alemanha em 2001 (Müller et al., 2004).

A Raiva humana transmitida por cães no CoE é rara. A grande maioria dos países não tem casos autóctones há décadas. A preocupação atual são os casos importados (Carrara et al., 2013). Em 2014, três casos importados de Raiva em viajantes que visitaram países endêmicos foram relatados na Espanha (visita ao Marrocos) (ECDC, 2018), França (visita ao Mali) (Contou et al., 2015), e Holanda (visita à Índia) (Bijkerk, 2014), todos por mordedura de cães. O caso na França resultou em 58 profissionais de saúde potencialmente expostos ao vírus (ECDC, 2017).

Além dos viajantes, outra grande preocupação para as autoridades de saúde pública europeia são os cães importados infectados com o VR, notificados na França (2012 e 2015) (Contou et al., 2015), Espanha (2013) e Holanda (2013) (ECDC, 2018). A reemergência da Raiva no norte da Itália em 2008-2011 (News and Reports, 2015) e na Grécia em 2012-2013 (Tsiodras et al, 2013) mostra a importância de se manter altos níveis de conscientização e vigilância epidemiológica.

1.4.2. Raiva na Ásia e Austrália

Os dados oficiais de incidência da Raiva e de exposição ao vírus são preocupantemente pobres na maioria dos países endêmicos para Raiva canina no continente asiático, e é cada vez mais reconhecido o quão subestimado são os dados (Cleaveland et al., 2002). Estudos de vigilância ativa destacam as disparidades entre as mortes registradas oficialmente e as que provavelmente acontecem pela Raiva, principalmente na Ásia e na África (Cleaveland et al., 2002; Deressa, 2010b).

Oficialmente, os dados de mortalidade registram 35.172 mortes humanas (59,6% das mortes no mundo) e perda de aproximadamente 2,2 milhões de DALY ocorrem por ano na Ásia, enquanto os custos econômicos podem chegar a seis bilhões de dólares (Hampson, 2015). Porém, estudos recentes que abordam novas técnicas de vigilância e estimativas mais fidedignas, atentam para um número de até 54.000 mortes anuais em toda Ásia. A Índia, com pouco mais de 20.000 mortes, acompanhada da China (6.000), respondem pelos maiores números de mortes na Ásia (74,3%) e também globalmente (44,2%) (WHO, 2018c). Apesar de não serem dados oficiais, estima-se que todos os 50 países do continente asiático sejam endêmicos para Raiva (Taylor, 2017).

Medidas de controle da população de cães (esterilização) e do controle da Raiva (vacinação em massa) têm se mostrado ineficientes na maioria dos países asiáticos (Buchy, 2017). Apesar de pequena, há uma constante melhora nos níveis de cobertura vacinal, mas ainda estão longe do mínimo recomendável (Shwiff, 2018).

Na China, a população de cães estimada em 2009 e 2010 era de 80 a 200 milhões de animais. Juntamente com a elevada densidade populacional canina, a baixa qualidade das vacinas utilizadas pode dar indícios sobre as razões para a manutenção de surtos de Raiva canina e, consequentemente, humana (Wu, 2009; Yin, 2012).

Situação muito parecida acontece na Índia, com agravantes importantes: o número elevado de cães de rua em estado de abandono, o que dificulta ainda mais o controle populacional, além da pobreza alarmante em muitas cidades (Menezes, 2008). Dados oficiais sobre a vigilância da Raiva na Índia, bem como na grande maioria dos países asiáticos, não são publicados de maneira regular, em relação à Raiva canina e também quanto aos humanos afetados. Pelo contrário, com algumas exceções, as publicações dos dados são esparsas e pouco confiáveis (Gautret, 2014; Taylor, 2017).

Além dos casos em cães, há relatos de Raiva silvestre, principalmente em primatas não-humanos e chacais (*Canis anthus*). O número de casos de Raiva envolvendo mordidas de primatas aumentou significativamente, principalmente em razão de surtos ocorridos nos anos 2000 (Menezes, 2008; Gautret, 2014). Em morcegos, existe uma preocupação crescente devido ao caráter emergente e reemergente da infecção nesses animais em alguns países (Robertson, 2011; Nguyen, 2014; Wang, 2014; Matsumoto, 2017).

Na Austrália, que é livre da Raiva transmitida por cães, a infecção em humanos pelo VR se dá pelo genótipo/espécie ABLV, que tem quirópteros como hospedeiros. Três mortes humanas transmitidas por quirópteros foram confirmadas, em 1996 (Hooper et al., 1997), em 1998 (Hanna et al., 2000) e em 2013 (Paterson et al., 2014), com crescente aumento de relatos da exposição de humanos a quirópteros. Além disso, em 2013, os primeiros isolamentos de ABLV em animais domésticos foram confirmados (Shinwari et al., 2014).

1.4.3. Raiva na África

Na África, estima-se que 21.476 mortes humanas ocorram a cada ano devido à Raiva transmitida por cães (36,4% das mortes humanas no mundo), com uma perda de 1,34 milhão

de DALY (Hampson, 2015). Assim como estimado na Ásia, todos os países africanos, 54 no total, já relataram casos de Raiva.

O foco primordial das pesquisas realizadas em vários países do continente é para adequar os métodos de vigilância e diminuir a discrepância entre a subnotificação oficial e os dados reais (Hampson, 2015), também, tornar acessível os dados epidemiológicos para, assim, estimar as tendências epidemiológicas e agir com políticas de saúde pública, que envolvam médicos e veterinários e ainda adotar ações que englobem o conceito de saúde única, no intuito de melhorar o controle da Raiva canina e, como consequência, a Raiva humana nesses países (Lembo et al., 2010; Nel, 2013; Adomako et al., 2018).

Em todo o continente Africano, esses enfoques são abordados por diversos pesquisadores, como Ripani et al., (2017) na Região Norte da África, que engloba a Mauritânia, Marrocos, Argélia, Tunísia e Líbia; Gana (Adomako et al., 2018), Tanzânia (Cleaveland et al., 2002), Quênia (Chong, 1993; Kitala et al., 2000), Suazilândia (Dlamini e Mathunjwa, 1995), Zimbábue (Foggin, 1988; Sabeta et al., (2003), Etiópia (Fekadu, 1982; Ayalew, 1985), Chad (Anyiam et al., 2017), Butão (Tenzin et al., 2011), República da África Central (Tricou et al., 2016), Nigéria (Ojo et al., 2016; Omoke e Onyemaechi, 2018), África do Sul (Gummow et al., 2010; Hergert et al., 2018; NICD-NHLS, 2018) e Zâmbia (De Balogh et al., 1993).

A Raiva em animais silvestres no continente africano é particularmente importante no que diz respeito à circulação de dois biótipos do vírus em reservatórios canídeos e mangustos. O biótipo dos mangustos ocorre em ciclos de transmissão entre espécies da família Herpestidae, particularmente no mangusto amarelo (*Cynictis penicillata*) e no mangusto do rabo preto (*Galerella sanguinea*). O biótipo canídeo cosmopolita, por outro lado, circula entre os membros da família Canidae, em chacais das costas pretas (*Canis mesomelas*), raposas com orelhas de morcego (*Otocyon megalotis*), chacais listrados (*Canis adustus*), além do cão doméstico (Sabeta et al., 2003; Lembo et al., 2008; Nel e Markotter, 2007; Nel, 2013). Enquanto a Raiva dos mangustos é considerada originalmente endêmica na região, a Raiva canina parece ter sido importada nos tempos modernos (Nel e Markotter, 2007).

A Raiva em morcegos no continente africano é pouco relatada e os dados sobre a infecção nesses animais são escassos e/ou subnotificados (Markotter et al., 2006; Hayman, 2008; Warrel, 2010). Este fato pode ser explicado pela preocupação imediata com a Raiva em cães, para onde todo o foco é dirigido.

1.4.4. Raiva nas Américas

Nas Américas, a Raiva ocorre em dois cenários distintos, um na América do Norte, nos EUA, Canadá e Alasca, considerados livres da Raiva transmitida por cães; e outro na América Latina (México, América Central/Caribe e América do Sul) (WHO, 2018c).

Apesar do controle da Raiva transmitida por cães nos EUA, a cada ano as interações com animais suspeitos resultam na necessidade de observar ou testar centenas de milhares de animais e administrar a PPE a 30.000 a 60.000 pessoas (CDC, 2017).

A cada ano, entre 60 a 70 cães e mais de 250 gatos são relatados com a doença, em sua maioria, animais que não foram vacinados e foram infectados por animais silvestres como morcegos, guaxinins, gambás e raposas. A mesma realidade é observada no Canadá (Haider, 2008; Monroe et al., 2016; CDC, 2017).

Linhagens do VR são mantidas em animais silvestres em diferentes regiões dos EUA e Canadá. Um exemplo é a variante canina adaptada a mamíferos silvestres terrestres nas espécies de coiotes (*Canis latrans*) e em raposas cinzentas (*Urocyon cinereoargenteus*) no oeste e centro do estado do Texas. Os guaxinins (*Procyon lotor*) são reservatórios na região Sudeste e meio-Atlântico, os gambás (*Mephitis mephitis*) na Califórnia e em estados do Centro-Norte e Centro-Sul e as raposas vermelhas (*Vulpes vulpes*), as raposas árticas (*Alopex lagopus*) nos estados de fronteira com o Canadá e no Alasca (Monroe et al., 2016; Canadá, 2018).

A Raiva em morcegos é endêmica em todo o território dos EUA, e 29 espécies de quirópteros insetívoros de diferentes gêneros (*Myotis, Eptesicus, Tadarida, Lasionycteris, Nycticeius, Lasiurus, Perimyotis, Antrozous, Pteropus, Parastrellus, Plecotus e Rosettus* e da família *Molossidae*) já foram diagnosticadas positivas em 48 estados americanos (De Serres et al., 2008; Monroe et al., 2016).

Casos de Raiva humana no Canadá são extremamente raros. De 1970 a 2007, foram registrados seis óbitos humanos (De Serres et al., 2008). Dentre eles, três foram transmitidos por quirópteros, sendo o último relato, na cidade de Alberta em 2007, tendo como animal agressor um morcego infectado com variante viral associada à espécie insetívora *Lasionycteris noctivagans* (CDC, 2008; Canadá, 2018).

No México a Raiva canina é controlada, e o país está em processo de certificação de área livre para Raiva humana transmitida por cães (Velasco-Villa et al., 2017). Porém, a Raiva em animais silvestres ainda é um grave problema. Diversas espécies participam do ciclo

silvestre da doença, ocasionando mortes humanas, incluindo os "*zorrillos*" (*Spilogale putorius* e *Conepatus semistriatus*), guaxinim (*Procyon lotor*), quati de nariz branco (*Nasua narica*) e as espécies de morcegos hematófagos *Desmodus rotundus* e *Diphylla ecaudata* (Ortega-Pacheco e Jimenez-Coelho, 2017). Espécies de morcegos não hematófagos com hábitos alimentares diversos também já foram diagnosticadas com o VR (Velasco-Villa et al., 2006).

Na América Latina e Caribe, a Raiva está distribuída por todos os 35 países. Nas últimas décadas, entretanto, a incidência da Raiva diminuiu consideravelmente em vários países como Uruguai, Chile, Costa Rica, México e Panamá. Áreas de países como o Peru, Brasil e Argentina estão livres da Raiva humana transmitida por cães, graças a vacinação maciça, embora existam certas áreas onde a doença ainda é endêmica (Vigilato et al., 2013).

As áreas de maior risco para Raiva transmitida por cães são Haiti, Bolívia, Guatemala, República Dominicana, Honduras e algumas regiões do Brasil (estado do Maranhão) e Peru (Região Puno). Em comum entre elas, a situação de pobreza (Schneider et al., 2011; Vigilato et al., 2013; Velasco-Villa et al., 2017). Dados de 2013 a 2016 registram casos de Raiva humana transmitida por cães na Bolívia, Brasil, República Dominicana, Guatemala, Haiti, Peru e Venezuela (WHO, 2017).

O Haiti, uma ilha no Caribe que passou por catástrofes climáticas que pioraram ainda mais o cenário das doenças infecciosas no país, inclusive da Raiva, apresentou entre 2005 e 2014, 38 casos de Raiva humana transmitida por cão (Velasco-Villa et al., 2017), o maior índice de todas as Américas. A seguir, com 29 casos registrados, está a Bolívia, país cujos níveis de pobreza também são elevados (Velasco-Villa et al., 2017; WHO, 2017).

Em 2016, foram relatadas 33 mortes humanas por Raiva na América Latina, Peru (15), Brasil (3), Guatemala (3), México (2), Colômbia (2) e Haiti (8), dessas, 10 transmitidas por cães, oito no Haiti e duas na Guatemala (WHO, 2017).

A Raiva silvestre terrestre, que ocorre principalmente na espécie *Cerdocyon thous* (cachorro do mato), suas peculiaridades geográficas e variantes virais são bem estudadas em alguns países latinos, principalmente os que não apresentam a Raiva transmitida por cães, como Argentina e Paraguai (Delpietro et al., 1997; Carnieli Jr et al., 2006; Amarilla et al., 2018; Antunes et al., 2018). Esses estudos tentam esclarecer e alertar como ocorreu o processo de *spillover* do vírus do cão doméstico a esses animais silvestres e quais os riscos de *spillback* para cães domésticos.

Outros mamíferos silvestres participam na dispersão do vírus, como o mão pelada (*Procyon lotor*) e o sagui do tufo branco (*Callithrix jacchus*) no Brasil (Favoretto et al., 2006; Antunes et al., 2018), as raposas cinzentas (*Urocyon cinereoargenteus)* na Colômbia (Páez et al., 2007) e o "mangusto" (Família *Herpestidae*) no Caribe e em Porto Rico (Nadin-Davis et al., 2008), e na Ilha de Granada (Zieger et al., 2014).

É importante observar uma característica epidemiológica que difere a transmissão da Raiva na América Latina e Caribe das outras regiões do planeta: a Raiva transmitida pelos morcegos hematófagos, principalmente da espécie *D. rotundus*. Essa espécie é encontrada desde a região Norte do México até o Norte da Argentina (Aguiar, 2007), sendo uma das principais transmissoras da Raiva humana em muitos países latinos (Kuzmin, 2011), além de volumosas perdas econômicas causadas pelos ataques de morcegos a animais de produção, estimadas em mais de 16 milhões de dólares anuais no Brasil (Hampson, 2015). A espécie é, ainda, responsável por grandes surtos de Raiva em humanos nas áreas remotas da região Amazônica (WHO, 2017), onde são limitados os acessos à saúde e aos cuidados médicos, principalmente no Brasil e Peru (Navarro, 2007; Barbosa, 2007; Mendes, 2009).

De acordo com os relatórios epidemiológicos atuais, pode-se afirmar que os morcegos são os principais reservatórios de VR na América Latina, que circula em ciclos silvestres próprios dos morcegos (Rupprecht, 2002 e 2009; Escobar, 2015). Mesmo em países considerados livres da Raiva transmitida pelo cão, a Raiva humana transmitida pelos morcegos é cada vez mais relatada. Já em 2005, na América Latina foram registrados 13 casos de Raiva humana transmitida por cães, enquanto os morcegos foram responsáveis por 60 casos (Schneider, 2009).

Além dos morcegos hematófagos, espécies não hematófagas, especialmente de morcegos insetívoros, assumiram o papel como fontes de infecção do vírus na América Latina (Favoretto, 2002; Schneider, 2005 e 2007; Kobayashi, 2007; Salmón-Mulanovich, 2009). Quase 25% das espécies de morcegos da América Latina já foram confirmadas com infecção pelo VR (Salmón-Mulanovich, 2009).

1.4.4.1. Raiva no Brasil

A epidemiologia da Raiva no Brasil registra um fato significativo ocorrido em 1911 (Carini, 1911), quando Antonio Carini relacionou, pela primeira vez, os morcegos hematófagos à Raiva, durante uma epizootia de Raiva bovina e equina no estado de Santa

Catarina. Desde então, o país passou por muitas transformações quanto à vigilância da doença (Babboni e Modolo, 2011).

Entre as décadas de 1940 e 1970, havia uma média anual variável de 10 a 30 casos de Raiva humana transmitida por cão (Takaoka, 2003). Porém, em 1980, um total de 168 casos humanos foi registrado (Schneider, 1996). A partir de 1977, todos os estados brasileiros passaram a realizar a vacinação antirrábica sistematicamente, além de o tratamento específico das pessoas mordidas ou que tinham contato com animais supostamente infectados (Takaoka, 2003). Como consequência, houve uma queda brusca do número de casos, totalizando 37 casos em 1988. Houve um recrudescimento nos anos 90, voltando a aumentar para 70 casos anuais, causado principalmente pela vigilância falha na região Nordeste e pelo aumento do número de casos relacionados aos morcegos (Schneider, 1996).

O município de Botucatu é pioneiro no Programa de Controle da Raiva no estado de São Paulo. Já em 1968, pesquisadores importantes e expoentes da Universidade, como os professores Walter Maurício Corrêa e Célia Nogueira Maurício Corrêa, implantaram em Botucatu, o primeiro Programa de Controle da Raiva no estado de São Paulo, modelo à epóca já constituído de procedimentos que atualmente são os recomendados pela OMS (Organização Mundial de Saúde) como base de um Programa de Profilaxia da Raiva Canina. No município não há casos da doença em cães há pelo menos 25 anos, e no ano de 2010, o projeto intitulado “42 anos de planejamento de campanhas de vacinação anual contra a Raiva canina em Município”, recebeu o prêmio regional do Melhor evento do Dia Mundial contra a Raiva na América Latina e Caribe (Babboni e Modolo, 2011; Modolo, 2011).

Assim, a epidemiologia da Raiva no Brasil apresenta heterogeneidade em suas regiões. Entre os anos 2000-2009, a região Nordeste foi responsável por 52% (85/163) dos casos humanos registrados no Brasil, a região Norte 38% (61/163), Região Sudeste 6% (10/163) e região Centro-Oeste 4% (7/163) (Wada, 2011). A região Sul não apresenta Raiva humana desde 1987, sendo que o último caso registrado foi de transmissão por morcego no estado do Paraná (Schneider, 1996).

A partir dos anos 1990, com a utilização da tipificação antigênica e molecular, a epidemiologia da Raiva ganhou ferramentas importantes que auxiliaram no entendimento da dinâmica do VR no Brasil (Favoretto et al., 2002). No país, circulam quatro variantes (AgV) do genótipo/espécie RABV, associadas a hospedeiros específicos: AgV2-cão, AgV3-morcego *D. rotundus*, AgV4-morcego *Tadarida brasiliensis* e AgV6-morcego *Lasiurus cinereus*; além

de linhagens específicas do vírus adaptadas em espécies de morcegos, como a linhagem "*Myotis* Brazil" (Oliveira et al., 2010; Albas et al., 2011a; Menozzi et al., 2017).

Mamíferos silvestres terrestres como o cachorro do mato e a raposa do campo (*Pseudalopex vetulus*) participam da manutenção do vírus a partir da linhagem de cão AgV2 adaptada a essas espécies na região Nordeste (Carnielli et al., 2006). Mesmo fato ocorre na espécie sagui de tufo branco, que tem sido apontada como importante reservatório do vírus em estados da região Nordeste (Aguiar et al., 2011; Kotait et al., 2018).

Nos felinos domésticos, entre 2015 e 2018, foram notificados 22 casos de infecção pelo VR. Dez deles na região Nordeste (seis por AgV3 e um por AgV2-*C. thous*), com três casos sem confirmação da variante viral; outros dez na região Sudeste (nove AgV3 e um da Linhagem *Myotis*) todos no estado de São Paulo nas cidades de Ribeirão Preto em 2015 e 2016, Jaguariúna em 2015, Pindamonhangaba, Itapetininga e Campinas em 2016, e Piracicaba e São José do Rio Preto em 2018, além de região Norte (um AgV3), e região Sul (um AgV4), (Brasil, 2019).

Entre os anos de 2000 a 2009, na divisão por regiões, Norte e Nordeste juntas responderam em média por cerca de 90% (146/163) dos casos de Raiva humana ocorridos no Brasil, destes, 47% (77/163) tendo o cão como transmissor (Wada, 2011). É também na região Nordeste que ainda persistem os focos de Raiva humana transmitida por cães no país: entre 2010 e 2015, 87,5% (7/8) deles ocorreram no Maranhão (5), Piauí (1) e Ceará (1) (Brasil, 2018).

Já a região Centro-Oeste, que não apresentava Raiva transmitida por cães desde 1994 (Favoretto, 2002), em 2015, registrou um caso declarado como importado na cidade de Corumbá no estado do Mato Grosso do Sul, transmitido por um cão na fronteira brasileira com a Bolívia, não por acaso, no mesmo ano houve uma epizootia da doença em cães em duas cidades fronteiriças, Corumbá e Ladário com 57 e 14 casos confirmados, todos com a variante AgV1, não circulante no Brasil (Brasil, 2018).

No Sudeste, os últimos relatos de Raiva humana transmitida por cão aconteceram em 1995, na última grande epizootia em Ribeirão Preto (Passos, 1998) e 1997 na cidade de Avanhandava (Takaoka, 2003), ambas no estado de São Paulo. Por outro lado, de 2015 a 2018, cinco casos de Raiva em cães, diagnosticados com AgV3, característica de morcegos, já foram registradas no estado (Brasil, 2019). Em 2016, a investigação de um caso de cão

diagnosticado positivo com a variante viral AgV3 no estado do Paraná concluiu que se tratava de um caso importado do Amapá (Brasil, 2016).

A Raiva transmitida pelo morcego *D. rotundus* em animais de produção, principalmente bovinos e equinos, é de grande importância. Os relatos oficiais de amostras biológicas enviadas e diagnosticadas em laboratórios credenciados no ano de 2018 foram de 230 bovinos e 43 equinos no Sudeste, o que corresponde a pouco mais de 40% (639) de casos do país, e 199 bovinos e 67 equinos, 60% (469) dos casos diagnosticados em 2018 (Brasil, 2019). Segundo as estimativas de amostras subnotificadas e não diagnosticadas, o número real pode chegar a 40.000 animais por ano em todo país (Teixeira et al., 2015).

1.5. Diversidade de *Lyssavirus* em quirópteros

Em todo mundo, a infecção por *Lyssavirus* ocorre em dois principais ciclos epidemiológicos que engloba diferentes espécies animais, variantes, linhagens e genótipos/espécies do vírus. Um deles é mantido por canídeos, principalmente pelos cães domésticos, mas também por diversos carnívoros silvestres. O outro consiste no ciclo aéreo, que envolve diferentes espécies de morcegos (Queiroz et al., 2012; Antunes et al., 2018; Simic et al., 2018).

Com aproximadamente 1.230 espécies em todo o mundo, os morcegos, ou quirópteros, são a segunda maior ordem de mamíferos (Chiroptera), compreendendo mais de 20% das espécies da classe Mammalia (Escobar et al., 2015).

Os morcegos são importantes membros do ecossistema global e os seres humanos se beneficiam de sua presença de muitas maneiras (Allocati et al., 2016). Eles são essenciais para a manutenção de vários ecossistemas nas regiões tropicais, por exemplo, onde atuam na reconstrução de áreas de florestas desmatadas, como dispersores de grande variedade de sementes (Corrêa et al., 2013). São, também, polinizadores exclusivos de inúmeras espécies de plantas frutíferas e não frutíferas. Sua exclusividade como mamífero voador, torna os morcegos um dos principais predadores de insetos noturnos, podendo se alimentar de algumas toneladas em uma única noite (Reis et al., 2007), incluindo insetos relacionados às pragas de culturas e a doenças humanas (Reis et al., 2007; Allocati et al., 2016). Até seu excremento, chamado de guano, que é muito rico em nutrientes como o nitrogênio, é utilizado como fertilizante biológico (Allocati et al., 2016).

Por outro lado, os quirópteros também são reconhecidos como importantes hospedeiros de agentes com potencial patogênico, envolvidos na emergência e disseminação de vírus animais e zoonóticos pertencentes a uma ampla gama de famílias, incluindo o VR (Rhabdoviridae), além de Paramyxoviridae (vírus Nipah e Hendra), Coronaviridae (Vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave, SARS-CoV) e Filoviridae (vírus Ebola e Marburg) (Corrêa et al., 2013; Han et al., 2015; Allocati et al., 2016).

Durante o último século, análises de *Lyssavirus* e seus hospedeiros, demonstram o importante papel desempenhado pelos quirópteros como reservatório (Kuzmin et al., 2015). Nas Américas, apenas variantes do genótipo/espécie RABV estão associadas com espécies de quirópteros, enquanto que em toda África, Ásia, Europa e Austrália, nenhuma detecção de RABV foi relatado em qualquer espécie de quirópteros (Banyard et al., 2013), embora outros *Lyssavirus* tenham sido detectados nessas localidades (Liu et al., 2013). A associação de longa história evolutiva entre *Lyssavirus* e quirópteros sugere que se trata de um dos mais importantes patógenos zoonóticos relacionados a esses mamíferos (Kuzmin, et al., 2015; Begeman et al., 2018; Simic et al., 2018).

O surgimento de ferramentas genéticas para explorar as diferenças entre as espécies de *Lyssavirus* teve um importante impacto no conhecimento da biodiversidade global e, em alguns casos, forneceu maior percepção sobre relações taxonômicas mais avançadas do VR e seus hospedeiros (Kuzmin et al., 2015). Graças ao uso de tais ferramentas, há, no mundo, relatos de identificação de diferentes genótipos/espécies associados à infecção de quirópteros.

Na Ásia e África a Raiva em quirópteros é considerada de importância secundária, além de subnotificada, o que torna raro os relatos não somente da infecção desses animais, quanto de óbitos humanos relacionados a quirópteros (Liu et al., 2013; WHO, 2018c). Dentre os registros nesses continentes, tem-se do isolamento do genótipo/espécie IRKV em quiróptero insetívoro *Murina leucogaster*, na China em 2010 (Liu et al., 2013), e a caracterização do genótipo/espécie LBV em óbito humano após mordida por quiróptero não identificado, na África do Sul em 2014 (NICD, 2014).

Na Austrália, os *lyssavirus* circulam em quirópteros com o genótipo/espécie ABLV, e tem como hospedeiros, as espécies de quirópteros insetívoros *Saccolaimus flaviventris*, *Tadarida brasiliensis e Lasiurus noctivagans* e as espécies de frugívoros do gênero *Pteropus, P. poliocephalus, P. Alecto e P. scapulatus* (*Grey-headed Flying-fox*) conhecidos como “raposas voadoras” (Hooper et al., 1997; Hanna et al., 2000).

No continente Europeu, em sua parte Ocidental, atualmente são conhecidas cinco genótipos/espécies de *lyssavirus* que circulam em morcegos, EBLV 1 e 2, BBLV, WCBV e LLEBV (Simic et al., 2018), além de ARAV, KHUV e IRKV na chamada Eurásia (países da Europa Oriental com proximidade à Ásia) (Mingo-Casas et al., 2017). Atividades de vigilância passiva para a Raiva em morcegos em vários países europeus, utilizando técnicas moleculares para a caracterização genética, dividem esses *Lyssavirus* regionalmente dentro do continente (Schatz et al., 2014 e Simic et al., 2018).

O *Lyssavirus* EBLV 1 tem como hospedeiros principais quirópteros insetívoros do gênero *Eptesicus, E. serotinus* e *E. isabellinus* (Schatz et al., 2013). É dividido em duas linhagens, EBLV 1a, encontrado em países da Europa central e oriental, França, Holanda, Dinamarca, Alemanha e Polônia, e EBLV 1b, que ocorre na Espanha, França, sul da Alemanha e centro da Polônia (Picard-Meyer et al., 2004; Müller et al., 2007; Smreczak et al., 2009 e Vázquez-Moron et al., 2011). EBLV 2 já foi isolado em quirópteros insetívoros do gênero *Myotis, M. daubentonii* no Reino Unido, Suíça, Alemanha, e em *M. dasycneme* na Holanda (McElhinney et al., 2013). BBLV em *M. nattereri* na França e Alemanha (Picard-Meyer et al., 2013). WCBV foi isolado nas montanhas do Cáucaso Ocidental no quiróptero insetívoro *Miniopterus schreibersii* (Botvinkin et al., 2003), espécie no qual também foi isolado o *Lyssavirus* LLBEV na Espanha (Ceballos et al., 2013).

Nas Américas, muitas espécies de quirópteros com uma variedade de hábitos alimentares, especialmente hematófagos, insetívoros e frugívoros, já foram identificadas como reservatórios para o VR do genótipo/espécie RABV (Escobar et al., 2015; Sodré et al., 2010; Vigilato et al., 2013; Ma, et al., 2018).

Em toda a América do Norte e América Latina, várias espécies de quirópteros pertencentes a três famílias, os Phyllostomidae, Molossidae e Vespertilionidae, são os reservatórios mais importantes de diversas variantes antigênicas (AgV3, 4 e 6) e linhagens virais geneticamente distintas de VR, como as linhagens *Myotis Brazil, Myotis Brazil II, Eptesicus Brazil, Nyctinomops Brazil, Tadarida brasiliensis South America* e *Lasiurus*, no Brasil (Oliveira et al., 2010; Menozzi et al., 2017), AgV 3, 6, 8 e 9 no México (Velasco-Vila, et al., 2006) e AgV 4 e 6 no Chile (Escobar et al., 2013). Variantes Ln = *Lasionycteris noctivagans* (the silver-haired bat); Ps = *Perimyotis subflavus* (the eastern tri-colored bat); Msp = *Myotis* species (the mouse-eared bats); Tb = *Tadarida brasiliensis* (the Mexican free-tailed bat) nos Estados Unidos (Messenger, 2002; Baynard, 2011; Dato et al., 2016) e treze

variantes, divididas em linhagens dos grupos *I*, *II, III* e *IV* no Canadá (Nadin-Davis et al., 2002).

Na porção norte do continente Americano, desde o primeiro isolamento do VR em morcegos insetívoros nos EUA nos anos 50 (Banyard et al., 2011), a vigilância passiva nesses animais ganhou grande importância (Dato et al., 2016; Nadin-Davis et al., 2017). Em 2016, foram diagnosticados positivos para infecção pelo VR 1.646 quirópteros, um terço do total dos 4.910 animais positivos de todas as outras espécies (Ma et al., 2018).

As principais espécies de reservatórios nas Américas são os quirópteros insetívoros *Lasionycteris noctivagans* (*Silver haired bat*), *Tadarida brasiliensis* (*Mexican free-tailed bat*), *Eptesicus fuscus* (*Big brown bat*), *Perymiotis subflavus* (*Tricolored bat*) e algumas espécies do gênero *Myotis* (Dato et al., 2016).

No Canadá, a espécie mais comumente envolvida e relatada com infecção de VR é o morcego insetívoro *Eptesicus fuscus,* que tem por hábito alojar-se em habitações humanas (telhados), tornando o contato com humanos muito frequentes (Nadin-Davis et al., 2017).

A biodiversidade de espécies de quirópteros já conhecida na América Latina é imensa, ainda que haja carência de estudos mais amplos para conhecer o real *status* (Reis et al., 2007). Há 333 espécies diferentes documentadas em 24 países latinos, onde Colômbia (172 espécies), Brasil (155 espécies), e Venezuela (152 espécies) apresentaram o maior número de espécies (IUCN, 2012). As maiores frequências de espécies positivas para o VR são os hematófagos 100% (3 espécies), carnívoros 60% (3 espécies), insetívoros 27% (50 espécies), seguido de nectarívoros 19% (5 espécies), frugívoros 13% (10 espécies) e onívoros 11% (4 espécies) (Escobar et al., 2015).

Os achados com infecção pelo VR em quirópteros nas áreas urbanas estão mais frequentes e isso pode indicar que a população de quirópteros nessas áreas tem aumentado, bem como a vigilância nesses animais (Kotait et al., 2007; Menozzi et al., 2017). Assim como outros mamíferos silvestres, esses animais passaram a habitar áreas de transição, o que aumentou a importância epidemiológica da Raiva silvestre (Kotait et al., 2007).

2. JUSTIFICATIVA

Um importante pilar das atividades de vigilância epidemiológica da Raiva no Brasil é a vigilância passiva de quirópteros, que preconiza o envio de espécimes encontrados em situação não usual para diagnóstico em laboratório credenciado pelo Ministério da Saúde, principalmente em áreas urbanas (Brasil, 2002).

O município de Botucatu e cidades vizinhas realizam essa atividade, sendo o Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) o laboratório credenciado responsável pelo diagnóstico.

O aumento da população de quirópteros em centros urbanos e a aquisição de hábitos sinantrópicos por esses animais são consequências do impacto de modificações ambientais de origem antropogênica, incluindo o crescimento desordenado das cidades (Langoni et al., 2005; Kotait et al., 2007).

A proximidade dos morcegos e humanos em áreas urbanas densamente povoadas torna o contato acidental quase que inevitável o que reforça a importância desses animais na epidemiologia da Raiva. Entre 2010 e 2018, o Brasil registrou 36 mortes humanas por Raiva. Dentre os casos fatais, cerca de metade 52,8% (19/36) foram associados à transmissão por morcegos (Brasil, 2019). Entre 2015 a 2017, nove casos foram registrados nas regiões Norte e Nordeste, seis deles com morcegos e três com o gato como transmissores, sendo o vírus tipificado como AgV3, demonstração clara dos animais domésticos como transmissores secundários de vírus específico de morcego (*spillover*). Já em 2018, onze casos foram registrados, dez em um surto no estado do Pará, todos transmitidos por morcegos hematófagos, e um caso no estado de São Paulo, em que não foi relatada a espécie de morcego envolvida (Brasil, 2019).

Uma vigilância forte e estruturada, ações rápidas de autoridades de saúde pública, médica e veterinária, além de pesquisas que auxiliem a elucidação de questões epidemiológicas, inclusive relacionada ao ciclo de transmissão em morcegos, são pontos de extrema relevância e importância para o controle da Raiva.

Sob esse contexto, este estudo foi idealizado e realizado. Este trabalho consiste na análise dos dados de vigilância passiva da Raiva em quirópteros na região de Botucatu, São Paulo, considerando-se o grande volume de informações obtidas pelo SDZ-FMVZ-UNESP

nos últimos anos, como laboratório credenciado, a fim de descrever a epidemiologia da infecção pelo VR em quirópteros e a importância desses animais na dinâmica da transmissão do vírus na região estudada.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Realizar um estudo descritivo da vigilância passiva da Raiva em quirópteros na região de Botucatu, São Paulo, no período de 2003 a 2018, com base em dados epidemiológicos e de diagnóstico de laboratório credenciado pela rede de Laboratórios de Diagnóstico de Raiva do Estado de São Paulo.

3.2. Objetivos específicos

- Descrever os percentuais de infecção pelo VR em quirópteros oriundos de 51 municípios da região de Botucatu, São Paulo, submetidos ao laboratório de referência, SDZ-FMVZ-UNESP, como parte das ações de vigilância passiva da Raiva nos últimos 16 anos (2003 a 2018);

- Mapear o local de recolhimento de morcegos infectados pelo VR no município de Botucatu, neste mesmo período, descrevendo a distribuição geográfica e temporal da infecção nesses animais;

- Verificar quais as espécies de morcegos infectadas pelo VR nos municípios ao longo do período de estudo, mapeando o município de Botucatu e descrevendo seus hábitos alimentares;

- Verificar a ocorrência de contato (direto ou indireto) entre morcegos diagnosticados positivos para infecção pelo VR e seres humanos e/ou animais domésticos, de acordo com a ficha de encaminhamento ao laboratório, analisando a frequência de contato e suas possíveis implicações ao sistema de saúde;

- Analisar, com base nos dados de diagnóstico da Raiva ao longo dos últimos 16 anos, a vigilância da Raiva em quirópteros na região de Botucatu, de modo a compreender e discutir o contexto ecoepidemiológico atual.

4. MÉTODOS E DIAGNÓSTICO

O projeto de pesquisa foi realizado após análise e aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da FMVZ/UNESP/Botucatu, (Protocolo Nº 163/2015).

4.1. Amostras

Quirópteros recolhidos como parte das atividades de vigilância passiva da Raiva, realizadas por equipes da prefeitura de municípios da região de Botucatu, São Paulo, que foram submetidos à rotina diagnóstica realizada no SDZ-FMVZ-UNESP entre 2003 e 2018.

Esses animais foram encontrados moribundos ou mortos, em domicílios ou vias públicas, ou ainda recolhidos em edifícios públicos ou privados, como escolas e hospitais.

Os animais recebidos vivos foram submetidos à eutanásia em câmara de CO^2. Foi realizada a colheita de material encefálico dos quirópteros mortos ou submetidos a eutanásia e o material foi submetido às técnicas de diagnóstico de Raiva. A identificação das espécies foi realizada utilizando-se chave taxonômica descrita por Vizotto e Tadei (1973) e Gregorin e Taddei (2002).

4.2. Imunofluorescência direta (IFD)

A IFD foi realizada no material encefálico colhido dos quirópteros. A técnica utiliza anticorpos fluorescentes ou conjugado antirrábico, que consiste em imunoglobulina antirrábica marcada com fluoróforo (isotiocianato de fluoresceína) para detecção de inclusões virais, sendo considerado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) o teste diagnóstico padrão-ouro (Singh, 2017). Baseia-se no exame microscópico de impressões de fragmentos de tecido do sistema nervoso central (SNC), “tratados” com conjugado específico e submetidos à microscopia de luz ultravioleta. O antígeno rábico, reagindo com o conjugado e excitado com luz ultravioleta (comprimento de onda de 260 nanômetros), emite uma luz esverdeada fluorescente.

O conjugado antirrábico utilizado na IFD foi cedido pelo Instituto Pasteur-SP. O mesmo é dirigido para a detecção do nucleocapsídeo do VR. A sua diluição ideal é realizada em suspensão de SNC de camundongos negativos para Raiva (CN), bem como em suspensão

SNC de camundongos inoculados com a cepa de VR *Challenge Virus Standard* (CVS). A diluição de uso foi variável de acordo com titulação prévia no laboratório, como por exemplo, 1:80 (1 µL do conjugado, 79 µL da suspensão CN/CVS), o que representa a melhor diluição para leitura dos resultados utilizando amostras controle de acordo com o resultado obtido na titulação.

Foi realizada a técnica de IFD adaptada de Dean et al. (1996), onde impressões de SNC são feitas em lâminas de microscopia quadriculadas de 26 x 76 mm, que são fixadas em acetona refrigerada por pelo menos quatro horas. A secagem das lâminas é realizada em estufa a 37° C. A seguir, são adicionados 25 µL das soluções de conjugado preparado com suspensão de CVS e CN sobre a impressão nas duas extremidades quadriculadas da lâmina, separadamente. As lâminas são incubadas em estufa a 37° C, em câmara úmida, por 30 minutos.

Após esse período, é realizada uma primeira lavagem das lâminas em solução salina tamponada (SST) pH 8,5 e, então, as mesmas permanecem imersas em SST por 10 minutos, repetindo-se este procedimento por duas vezes. Após as lavagens, as lâminas são secas em estufa, como mencionado anteriormente. Após secagem, procede-se a montagem com glicerina tamponada pH 8,5, cobrindo-se com lamínula de 22 x 22 mm. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio de imunofluorescência (Zeiss®, Alemanha) com objetiva de 40x.

As impressões positivas foram confirmadas pela visualização de corpúsculos característicos, brilhantes de cor esverdeada, de diferentes formas e tamanhos, na extremidade da lâmina correspondente à adição de suspensão de CN, onde a presença de inclusões virais é oriunda do material biológico testado. A extremidade da lâmina correspondente à adição de suspensão de CVS foi utilizada como controle da reação, considerando-se os resultados somente após a visualização das inclusões virais oriundas dos camundongos infectados.

4.3. Inoculação intracerebral em camundongos ou prova biológica

A prova de inoculação intracerebral em camundongos foi realizada segundo protocolo descrito por Koprowski (1996), que consiste na inoculação via intracerebral em camundongos albinos suíços com 21 dias de idade, de suspensão de material encefálico colhido de animal para o qual se quer realizar o diagnóstico. A técnica constitui, portanto, no isolamento *in vivo* do VR.

Para o preparo da suspensão de inóculo, foi colhido o material total do SNC dos

quirópteros, macerado em gral estéril, adicionando-se 1:5 (peso:volume) de solução diluente preparada com água filtrada, obtida em aparelho de osmose reversa (Merck®, EUA), e estéril em autoclave a 121°C, além de soro equino (Laborclin®, Brasil) e antibiótico (Frademicina, 600mgml, Pfizer®, USA). A suspensão foi centrifugada a 1000 x rpm por 10 minutos, e o sobrenadante separado e inoculado nos camundongos por via intracerebral.

Foram inoculados cinco camundongos para cada amostra de SNC de quiróptero submetido ao diagnóstico. Os camundongos foram alojados em caixas de polipropileno identificadas, mantidas em estante ventilada (Alesco®, Brasil), com água e ração *ad libitum*. Foram utilizadas fichas de avaliação individual para o registro de alterações clínicas, com observação diária dos camundongos por 30 dias. Ao apresentarem os sinais clínicos da doença (arrepio dos pelos, prostração, paralisia dos membros), os camundongos foram submetidos à eutanásia em câmara de CO^2, procedendo-se a retirada do encéfalo e submetendo-o ao teste de IFD, para a confirmação diagnóstica.

4.4. Análise dos dados

4.4.1. Análises exploratórias e descritivas

Os dados referentes à totalidade de quirópteros submetida ao SDZ no período estudado foram organizados em um banco de dados no programa *Microsoft Excel*® 2010, contendo informações sobre a data e o município de recolhimento, espécie do animal, contato com outros animais ou humanos e resultado diagnóstico.

Análises exploratórias e descritivas foram realizadas, de acordo com as variáveis contidas no banco de dados, exibidas em forma de gráficos e tabelas no próprio *Microsoft Excel*, também utilizado para o cálculo dos percentuais de positividade. Os respectivos intervalos de confiança das proporções foram calculados com o auxílio do programa Stata 14.0 (StataCorp LP, Copyright 1985-2015), considerando-se um nível de significância (α) de 5%.

4.4.2. Mapeamento de morcegos positivos para o VR no município de Botucatu e região

Dados de endereços do local de recolhimento dos quirópteros positivos nas técnicas diagnósticas para Raiva (IFD e prova biológica), oriundos de Botucatu, foram coletados a

partir das fichas de encaminhamento e adicionados ao banco de dados. Os endereços foram utilizados para a construção de mapas, a fim de demonstrar o local onde quirópteros infectados pelo VR foram encontrados.

Os endereços dos quirópteros positivos foram submetidos manual e individualmente à busca no Google *Maps* (https://www.google.com/maps) a fim de se obter as coordenadas geográficas (X e Y) dos locais em que foram encontrados, adicionando-se essas informações ao banco de dados. A seguir, os locais foram georreferenciados utilizando-se o *software* *ArcMap* v. 10.5.1 (*ArcGIS* desktop, Copyright© 1995-2017 Esri™, EUA), empregando-se base cartográfica do território brasileiro obtida na página do Núcleo de Economia Regional e Urbana da Universidade de São Paulo (www.usp.br/nereus) e a base cartográfica de municípios do estado de São Paulo, obtida na página da internet do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (www.ibge.gov.br). Os mapas foram elaborados considerando-se não somente o local de recolhimento, mas também o ano de diagnóstico, a espécie e o hábito alimentar dos quirópteros positivos.

5. RESULTADOS

Nos últimos 16 anos (2003 a 2018), 4.281 quirópteros foram submetidos ao diagnóstico de Raiva no SDZ-FMVZ-UNESP, em média 267 amostras por ano. Os quirópteros representaram cerca de metade (49,2%) de todas as amostras animais submetidas para diagnóstico de infecção pelo VR no SDZ nesse período (Fig. 1).

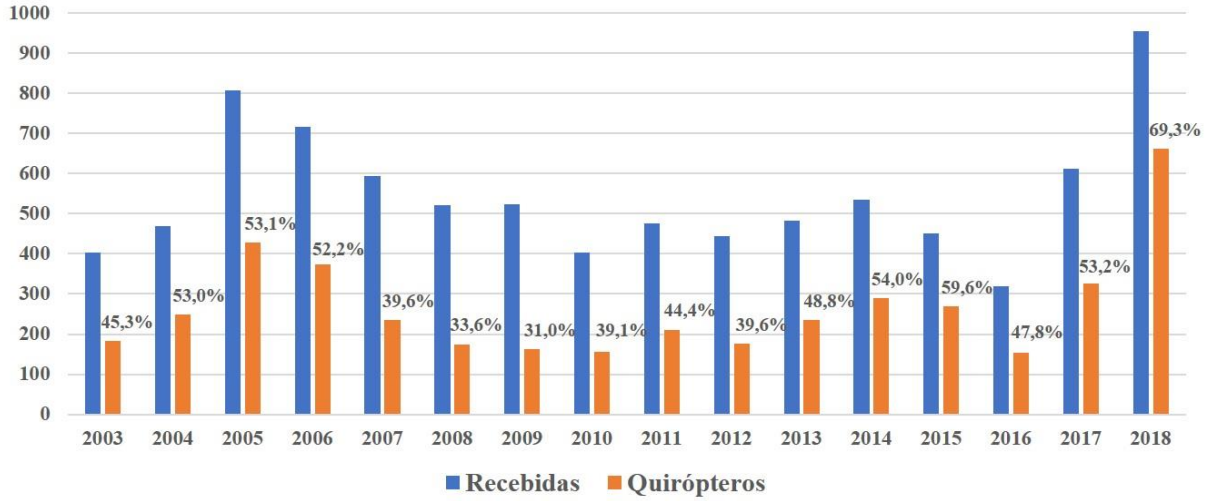


Figura 1. Relação entre o número de amostras de quirópteros e o total de amostras de animais (todas as espécies) recebidas no período de 2003 a 2018 para diagnóstico de infecção pelo VR. Botucatu/SP, 2019.

Os quirópteros foram oriundos de 51 municípios, cujas localizações no estado de São Paulo estão representadas na Figura 2. Os municípios pertencem à área de abrangência de oito diferentes Grupos de Vigilância Epidemiológica (GVE) (SES, 2018): Assis (1), Bauru (23), Botucatu (19), Campinas (1), Itapeva (1), Piracicaba (4), São José do Rio Preto (1) e São Paulo (1) (Tab. 2).

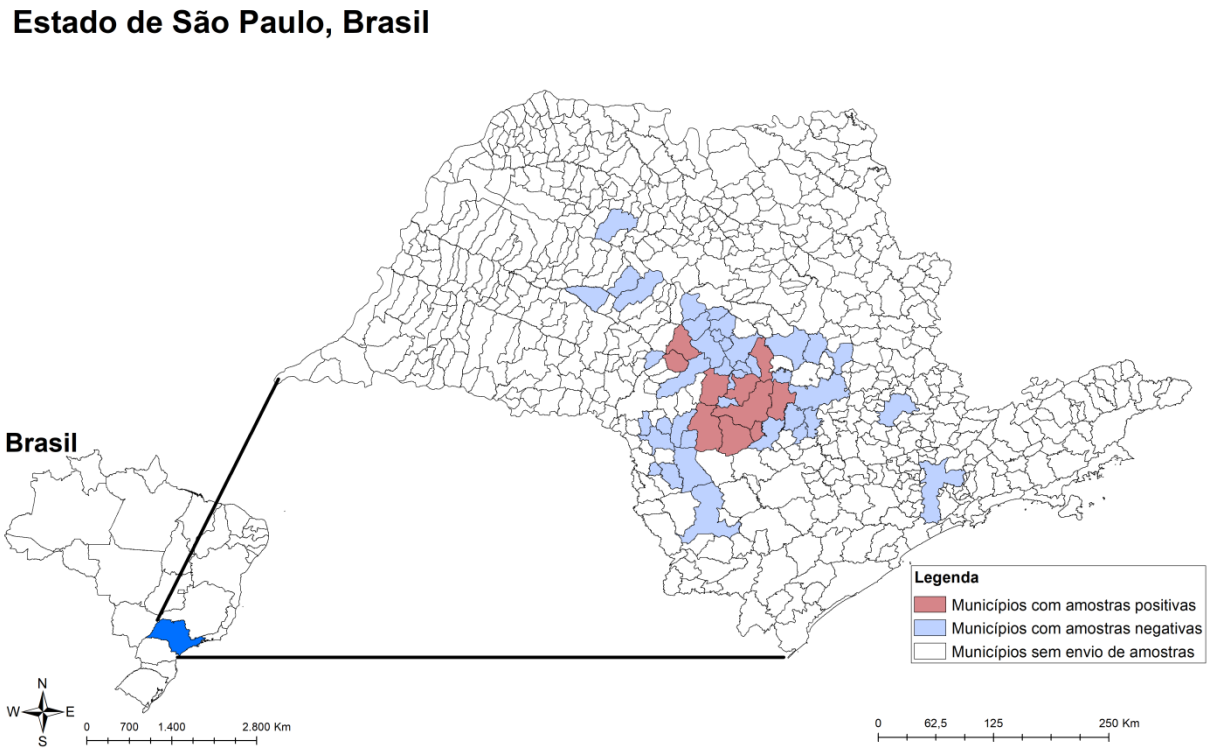


Figura 2. Localização dos municípios com envio de amostras, negativas e positivas de quirópteros para a infecção pelo vírus da Raiva, no período de 2003 a 2018. Botucatu/SP, 2019.

O total de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR em todo o período foi de 57 animais, o que representa um percentual de 1,3% (57/4.281; IC 95% 1,0-1,7). Dentre os 51 municípios que enviaram amostras, dez tiveram quirópteros diagnosticados positivos para infecção do VR, pertencentes ao GVE Botucatu (Anhembi, Avaré, Botucatu, Itatinga, Pardinho, São Manuel) ou GVE Bauru (Bauru, Dois Córregos, Lençóis Paulista, Piratininga) (Fig. 3). Estes dados estão descritos na Tabela 1, incluindo a prevalência anual para cada município.

Tabela 1. Distribuição dos quirópteros recolhidos em atividades de vigilância da Raiva e submetidos ao Laboratório de Diagnóstico de Zoonoses, de acordo com o ano, município e GVE de recolhimento, além do resultado do diagnóstico de infecção pelo vírus da Raiva (VR). Botucatu/SP, 2019.

Ano	Município	GVE[a]	Quirópteros		Percentual de diagnóstico positivo (IC 95%[b])
			examinados	positivos	
2003	Anhembi	Botucatu	16	0	0
	Avaré	Botucatu	3	0	0
	Barra Bonita	Bauru	1	0	0
	Bofete	Botucatu	5	0	0
	Botucatu	Botucatu	130	1	0,8% (0,0 – 4,2)
	Conchas	Botucatu	1	0	0
	Itatinga	Botucatu	1	0	0
	Itirapina	Piracicaba	15	0	0
	Jaú	Bauru	1	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	1	0	0
	Manduri	Botucatu	1	0	0
	Pardinho	Botucatu	3	0	0
	Santa Maria da Serra	Piracicaba	2	0	0
	São Manuel	Botucatu	3	0	0
2004	Avaré	Botucatu	3	0	0
	Bariri	Bauru	1	0	0
	Botucatu	Botucatu	215	1	0,5% (0,0 – 2,6)
	Conchas	Botucatu	4	0	0
	Dois Córregos	Bauru	2	0	0
	Itatinga	Botucatu	3	0	0
	Jaú	Bauru	2	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	1	0	0
	Manduri	Botucatu	1	0	0
	Pardinho	Botucatu	1	0	0
	Piraju	Botucatu	2	0	0
	São Manuel	Botucatu	12	0	0
	Taguaí	Botucatu	1	0	0
2005	Anhembi	Botucatu	1	0	0
	Areiópolis	Botucatu	2	0	0
	Avaré	Botucatu	1	0	0
	Bariri	Bauru	5	0	0
	Barra Bonita	Bauru	3	0	0
	Bofete	Botucatu	21	0	0
	Boraceia	Bauru	1	0	0
	Botucatu	Botucatu	340	2	0,6% (0,1 – 2,1)
	Dois Córregos	Bauru	5	0	0
	Itaí	Botucatu	1	0	0

	Itatinga	Botucatu	4	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	5	0	0
	Manduri	Botucatu	1	0	0
	Mineiros do Tietê	Bauru	1	0	0
	Pardinho	Botucatu	19	0	0
	Pereiras	Botucatu	1	0	0
	Piraju	Botucatu	4	0	0
	São Manuel	Botucatu	11	0	0
	Taquarituba	Botucatu	2	0	0
2006	Arandu	Botucatu	2	0	0
	Areiópolis	Botucatu	1	0	0
	Bariri	Bauru	2	0	0
	Barra Bonita	Bauru	4	0	0
	Bauru	Bauru	1	1	100%
	Bofete	Botucatu	1	0	0
	Botucatu	Botucatu	303	4	1,3% (0,0 – 2,6)
	Campinas	Campinas	1	0	0
	Dois Córregos	Bauru	6	0	0
	Igaraçu do Tietê	Bauru	4	0	0
	Itatinga	Botucatu	15	0	0
	Jaú	Bauru	3	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	13	0	0
	Piraju	Botucatu	1	0	0
	Piratininga	Bauru	1	0	0
	São Manuel	Botucatu	15	1	6,7% (0,2 – 31,9)
	São Paulo	Capital	1	0	0
2007	Areiópolis	Botucatu	2	0	0
	Barra Bonita	Bauru	5	0	0
	Bauru	Bauru	1	0	0
	Bofete	Botucatu	1	0	0
	Botucatu	Botucatu	196	2	1,0% (0,1 – 3,6)
	Conchas	Botucatu	2	0	0
	Dois Córregos	Bauru	1	0	0
	Itapuí	Bauru	2	0	0
	Itatinga	Botucatu	7	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	4	0	0
	Manduri	Botucatu	1	0	0
	Pardinho	Botucatu	3	0	0
	Piracicaba	Piracicaba	1	0	0
	Pratânea	Botucatu	1	0	0
	São Manuel	Botucatu	8	0	0
2008	Agudos	Bauru	1	0	0
	Barra Bonita	Bauru	2	0	0
	Botucatu	Botucatu	120	0	0
	Cerqueira César	Botucatu	1	0	0
	Conchas	Botucatu	1	0	0
	Dois Córregos	Bauru	17	1	5,9% (0,1 – 28,7)

	Itapuí	Bauru	1	0	0
	Itatinga	Botucatu	7	0	0
	Jaú	Bauru	1	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	11	0	0
	Pardinho	Botucatu	1	0	0
	Piratininga	Bauru	9	2	22,2% (2,8 – 60,0)
	Rio Claro	Piracicaba	1	0	0
	São Manuel	Botucatu	2	0	0
2009	Barra Bonita	Bauru	4	0	0
	Botucatu	Botucatu	114	2	1,7% (0,2 – 6,2)
	Cerqueira César	Botucatu	1	0	0
	Dois Córregos	Bauru	19	0	0
	Iacanga	Bauru	1	0	0
	Itaí	Botucatu	1	0	0
	Itatinga	Botucatu	11	0	0
	Jaú	Bauru	1	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	1	0	0
	Piraju	Botucatu	1	0	0
	Piratininga	Bauru	3	0	0
	São Manuel	Botucatu	5	0	0
2010	Avaré	Botucatu	2	0	0
	Barra Bonita	Bauru	1	0	0
	Bauru	Bauru	2	0	0
	Botucatu	Botucatu	126	3	2,4% (0,5 – 6,8)
	Dois Córregos	Bauru	13	0	0
	Itatinga	Botucatu	1	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	1	0	0
	Lins	Bauru	5	0	0
	Manduri	Botucatu	1	0	0
	Piraju	Botucatu	3	0	0
	Piratininga	Bauru	2	0	0
2011	Agudos	Bauru	1	0	0
	Avaré	Botucatu	1	0	0
	Botucatu	Botucatu	164	1	0,6% (0,0 – 3,3)
	Cerqueira César	Botucatu	1	0	0
	Conchas	Botucatu	1	0	0
	Dois Córregos	Bauru	27	1	3,7% (0,1 – 19,0)
	Duartina	Bauru	2	0	0
	Itapuí	Bauru	1	0	0
	Itatinga	Botucatu	2	0	0
	Jaú	Bauru	3	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	1	0	0
	Manduri	Botucatu	1	0	0
	Mineiros do Tietê	Bauru	1	0	0
	Piraju	Botucatu	1	0	0
	Piratininga	Bauru	3	0	0
	São Manuel	Botucatu	1	0	0

2012	Avaré	Botucatu	2	0	0
	Barra Bonita	Bauru	2	0	0
	Bauru	Bauru	1	0	0
	Botucatu	Botucatu	141	0	0
	Conchas	Botucatu	2	0	0
	Dois Córregos	Bauru	7	0	0
	Itapuí	Bauru	4	0	0
	Itatinga	Botucatu	1	0	0
	Jaú	Bauru	1	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	8	1	12,5% (0,3 – 52,6)
	Pederneiras	Bauru	1	0	0
	Piraju	Botucatu	4	0	0
	São Manuel	Botucatu	2	0	0
2013	Avaré	Botucatu	1	0	0
	Bofete	Botucatu	1	0	0
	Botucatu	Botucatu	202	2	1,0% (0,1 – 3,5)
	Conchas	Botucatu	1	0	0
	Dois Córregos	Bauru	8	0	0
	Duartina	Bauru	1	0	0
	Igaraçu do Tietê	Bauru	1	0	0
	Itapuí	Bauru	4	0	0
	Itatinga	Botucatu	2	1	50,0% (1,2 – 98,7)
	Lençóis Paulista	Bauru	10	0	0
	Taguaí	Botucatu	1	0	0
	Taquarituba	Botucatu	1	0	0
	São Manuel	Botucatu	2	0	0
2014	Barra Bonita	Bauru	2	0	0
	Bauru	Bauru	32	1	3,1% (0,1 – 16,2)
	Botucatu	Botucatu	224	2	0,9% (0,1 – 3,2)
	Dois Córregos	Bauru	9	0	0
	Duartina	Bauru	1	0	0
	Itatinga	Botucatu	4	0	0
	Jaú	Bauru	1	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	8	0	0
	Mineiros do Tietê	Bauru	2	0	0
	São Manuel	Botucatu	5	1	20,0% (0,5 – 71,6)
	Taquarituba	Botucatu	1	0	0
2015	Barra Bonita	Bauru	2	0	0
	Bauru	Bauru	42	0	0
	Bofete	Botucatu	2	0	0
	Botucatu	Botucatu	195	3	1,5% (0,3 – 4,4)
	Dois Córregos	Bauru	6	1	16,7% (0,4 – 64,1)
	Itatinga	Botucatu	10	0	0
	Jaú	Bauru	1	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	1	0	0
	Pardinho	Botucatu	1	0	0
	Pereiras	Botucatu	1	0	0

	Piracicaba	Piracicaba	2	0	0
	São Manuel	Botucatu	4	0	0
	Taquarituba	Botucatu	2	0	0
2016	Anhembi	Botucatu	2	2	100,0%
	Arealva	Bauru	1	0	0
	Bariri	Bauru	1	0	0
	Bauru	Bauru	23	0	0
	Botucatu	Botucatu	103	1	1,0% (0,0 – 5,3)
	Conchas	Botucatu	1	0	0
	Dois Córregos	Bauru	7	0	0
	Igaraçu do Tietê	Bauru	2	0	0
	Itaju	Bauru	1	0	0
	Itatinga	Botucatu	4	0	0
	Jaú	Bauru	4	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	2	0	0
	Piraju	Botucatu	2	0	0
2017	Agudos	Bauru	1	0	0
	Avaré	Botucatu	1	0	0
	Barra Bonita	Bauru	2	0	0
	Bauru	Bauru	48	2	4,2% (0,5 – 14,2)
	Bernardino de Campos	Assis	1	0	0
	Botucatu	Botucatu	233	7	3,0% (1,2 – 6,1)
	Brotas	Bauru	1	0	0
	Dois Córregos	Bauru	5	0	0
	Getulina	Bauru	1	0	0
	Igaraçu do Tietê	Bauru	1	0	0
	Itatinga	Botucatu	3	0	0
	Jaú	Bauru	5	0	0
	José Bonifácio	São José do Rio Preto	1	0	0
	Lençóis Paulista	Bauru	1	0	0
	Macatuba	Bauru	10	0	0
	Pardinho	Botucatu	3	0	0
	São Manuel	Botucatu	8	0	0
2018	Agudos	Bauru	1	0	0
	Areiópolis	Botucatu	1	0	0
	Anhembi	Botucatu	4	0	0
	Avaré	Botucatu	13	1	7,7% (0,2 – 36,0)
	Bariri	Bauru	1	0	0
	Barra Bonita	Bauru	2	0	0
	Bauru	Bauru	81	0	0
	Botucatu	Botucatu	493	9	1,8% (0,6 – 3,0)
	Cafelândia	Bauru	1	0	0
	Dois Córregos	Bauru	11	0	0
	Duartina	Bauru	2	0	0
	Iacanga	Bauru	1	0	0
	Itapeva	Itapeva	1	0	0

Itapuí	Bauru	1	0	0
Itatinga	Botucatu	16	0	0
Jaú	Bauru	3	0	0
Laranjal Paulista	Botucatu	1	0	0
Lençóis Paulista	Bauru	9	0	0
Pardinho	Botucatu	5	1	20,0% (0,5 – 71,6)
Pereiras	Botucatu	1	0	0
Piratininga	Bauru	5	0	0
São Manuel	Botucatu	8	0	0
Total		4.281	57	1,3% (1,0 – 1,7)

Legenda: [a]Grupo de Vigilância Epidemiológica. [b]IC95%: intervalo de confiança de 95%

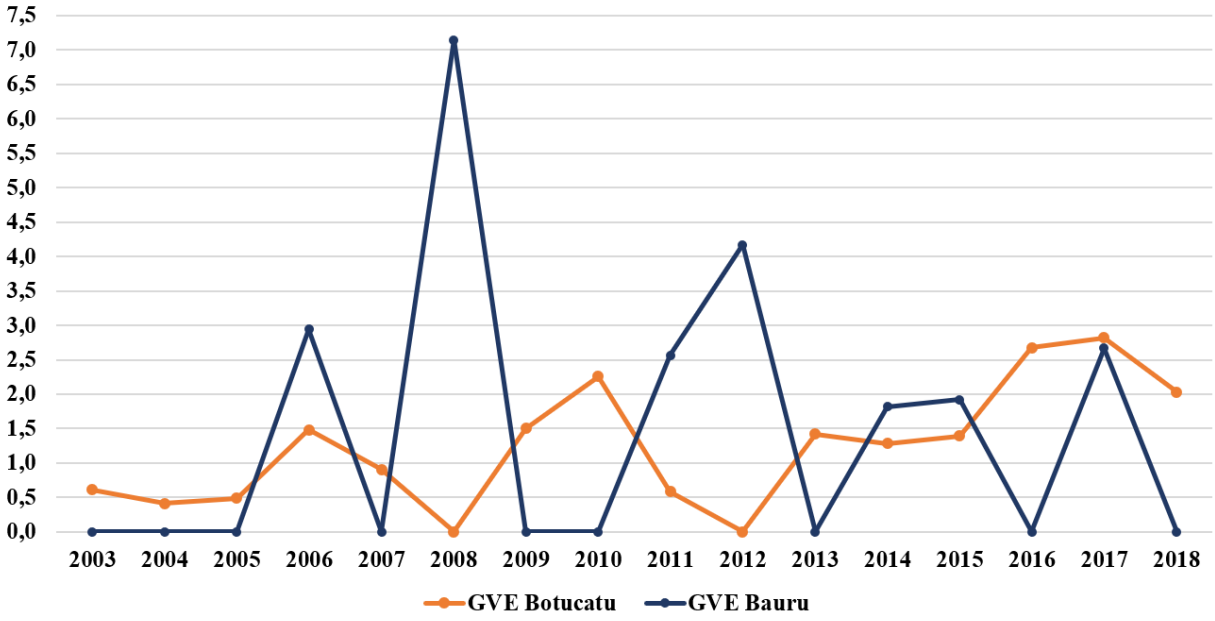


Figura 3. Percentual de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR em municípios do GVE Bauru e GVE Botucatu, de acordo com os anos de recolhimento. Botucatu/SP, 2019.

Cada um dos 57 quirópteros com diagnóstico positivo para o VR no período estudado encontra-se descrito na Tabela 2, de acordo com o ano de diagnóstico, município de origem, classificação taxonômica e hábito alimentar. Dentre os quirópteros positivos, a maioria era de hábito alimentar insetívoro (41/57; 71,9%), seguido de frugívoro (12/57; 21,1%) e nectarívoro/hematófago (2/57; 3,5%, para cada um dos dois hábitos). A distribuição dos quirópteros positivos oriundos apenas do município de Botucatu, de acordo com o hábito alimentar, ao longo dos anos estudados é ilustrada na Figura 4.

Tabela 2. Lista de quirópteros com diagnóstico positivo de infecção pelo vírus da Raiva na região de Botucatu, São Paulo. Botucatu/SP, 2019.

ID	Ano	Município	Família	Espécie	Hábito alimentar
233/03	2003	Botucatu	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
274/04	2004	Botucatu	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
180/05	2005	Botucatu	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
419/05	2005	Botucatu	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
169/06	2006	Bauru	Vespertilionidae	Myotis nigricans	Insetívoro
245/06	2006	Botucatu	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
291/06	2006	Botucatu	Phyllostomidae	*Artibeus liuratus*	Frugívoro
320/06	2006	São Manuel	Phyllostomidae	*Artibeus* spp.	Frugívoro
394/06	2006	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
691/06	2006	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
96/07	2007	Botucatu	Molossidae	*Nyctinomops laticaudatus*	Insetívoro
206/07	2007	Botucatu	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
105/08	2008	Dois Córregos	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
205/08	2008	Piratininga	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
211/08	2008	Piratininga	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
122/09	2009	Botucatu	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
204/09	2009	Botucatu	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
24/10	2010	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
63/10	2010	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
270/10	2010	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
59/11	2011	Dois Córregos	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
383/11	2011	Botucatu	Molossidae	*Eumops glaucinus*	Insetívoro
354/12	2012	Lençóis Paulista	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
102/13	2013	Itatinga	Vespertilionidae	*Histiotus* spp.	Insetívoro
214/13	2013	Botucatu	Molossidae	*Nyctinomops laticaudatus*	Insetívoro
326/13	2013	Botucatu	Molossidae	*Eumops glaucinus*	Insetívoro
220/14	2014	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
304/14	2014	São Manuel	Phyllostomidae	*Anoura caudifer*	Nectarívoro
329/14	2014	Bauru	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
459/14	2014	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
30/15	2015	Botucatu	Molossidae	*Eumops* spp.	Insetívoro
240/15	2015	Botucatu	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
424/15	2015	Botucatu	Vespertilionidae	*Lasiurus cinereus*	Insetívoro
425/15	2015	Dois Córregos	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
66/16	2016	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
123/16	2016	Anhembi	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro

243/16	2016	Anhembi	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
95/17	2017	Botucatu	Molossidae	*Eumops* spp.	Insetívoro
134/17	2017	Bauru	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
258/17	2017	Bauru	Phyllostomidae	*Glossophaga soricina*	Nectarívoro
471/17	2017	Botucatu	Vespertilionidae	*Eptesicus brasiliensis*	Insetívoro
503/17	2017	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
524/17	2017	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis raparius*	Insetívoro
545/17	2017	Botucatu	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
605/17	2017	Botucatu	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
606/17	2017	Botucatu	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
123/18	2018	Botucatu	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
125/18	2018	Botucatu	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro
144/18	2018	Botucatu	Molossidae	*Eumops auripendulus*	Insetívoro
221/18	2018	Botucatu	Phyllostomidae	*Desmodus rotundus*	Hematófago
261/18	2018	Botucatu	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
321/18	2018	Pardinho	Phyllostomidae	*Desmodus rotundus*	Hematófago
358/18	2018	Botucatu	Molossidae	*Nyctinomops laticaudatus*	Insetívoro
413/18	2018	Botucatu	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
516/18	2018	Botucatu	Phyllostomidae	*Artibeus lituratus*	Frugívoro
667/18	2018	Avaré	Vespertilionidae	*Myotis nigricans*	Insetívoro
680/18	2018	Botucatu	Molossidae	*Molossus molossus*	Insetívoro

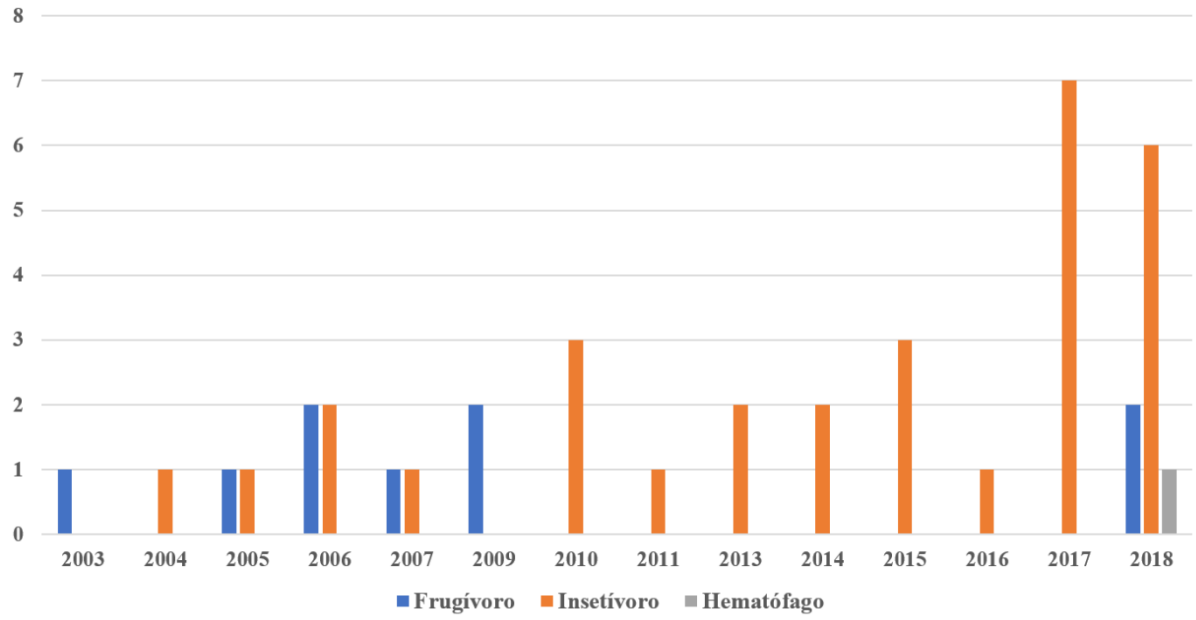


Figura 4. Distribuição dos hábitos alimentares dos 40 quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR no município de Botucatu ao longo do período de 2003 a 2108. Botucatu/SP, 2019.

Considerando-se somente os quirópteros oriundos do município de Botucatu, a prevalência de infecção pelo VR no período foi de 1,2% (40/3.289; IC 95% 0,8-1,6), baseando-se nos dados de vigilância passiva. O gráfico do percentual de quirópteros positivos em Botucatu ao longo dos 16 anos estudados é exibido na Figura 5.

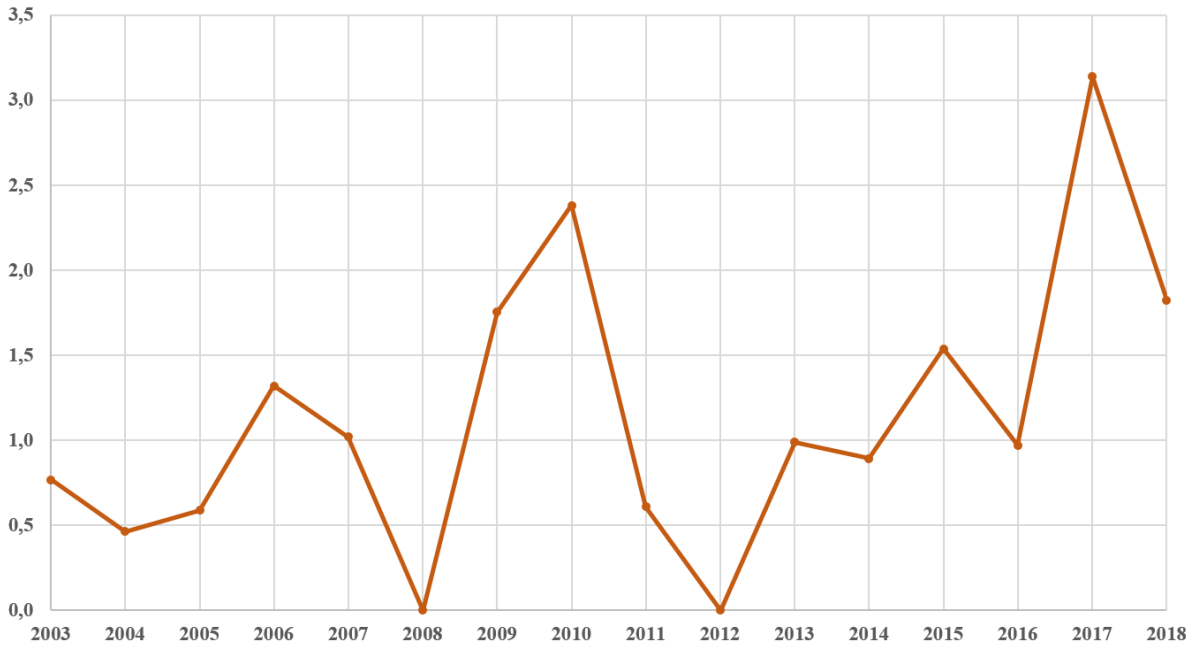


Figura 5. Percentual de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR no município de Botucatu, no período de 2003 a 2018. Botucatu/SP, 2019.

Os locais de recolhimento dos quirópteros infectados pelo VR no município de Botucatu, bem como sua localização no estado de São Paulo, estão ilustrados na Figura 6, enquanto a Figura 7 ilustra a distribuição das espécies positivas no território do município. A distribuição temporal da infecção pelo VR em quirópteros de Botucatu no período estudado é representada pelos mapas contidos nas Figuras 8 e 9.

Com relação às informações sobre contato dos quirópteros positivos com humanos e/ou animais domésticos, verificou-se que em 33,3% (19/57) dos casos positivos houve relato de algum tipo de contato ou possível contato (Fig. 10), gerando encaminhamento para cuidado médico ou médico/veterinário. Os dados são apresentados detalhadamente no Quadro 1, incluindo o local de recolhimento (Fig. 11) o estado em que o animal foi encontrado (vivo, morto ou com alterações de comportamento). Os resultados são descritos de modo idêntico àquele registrado nas fichas de encaminhamento dos quirópteros ao laboratório

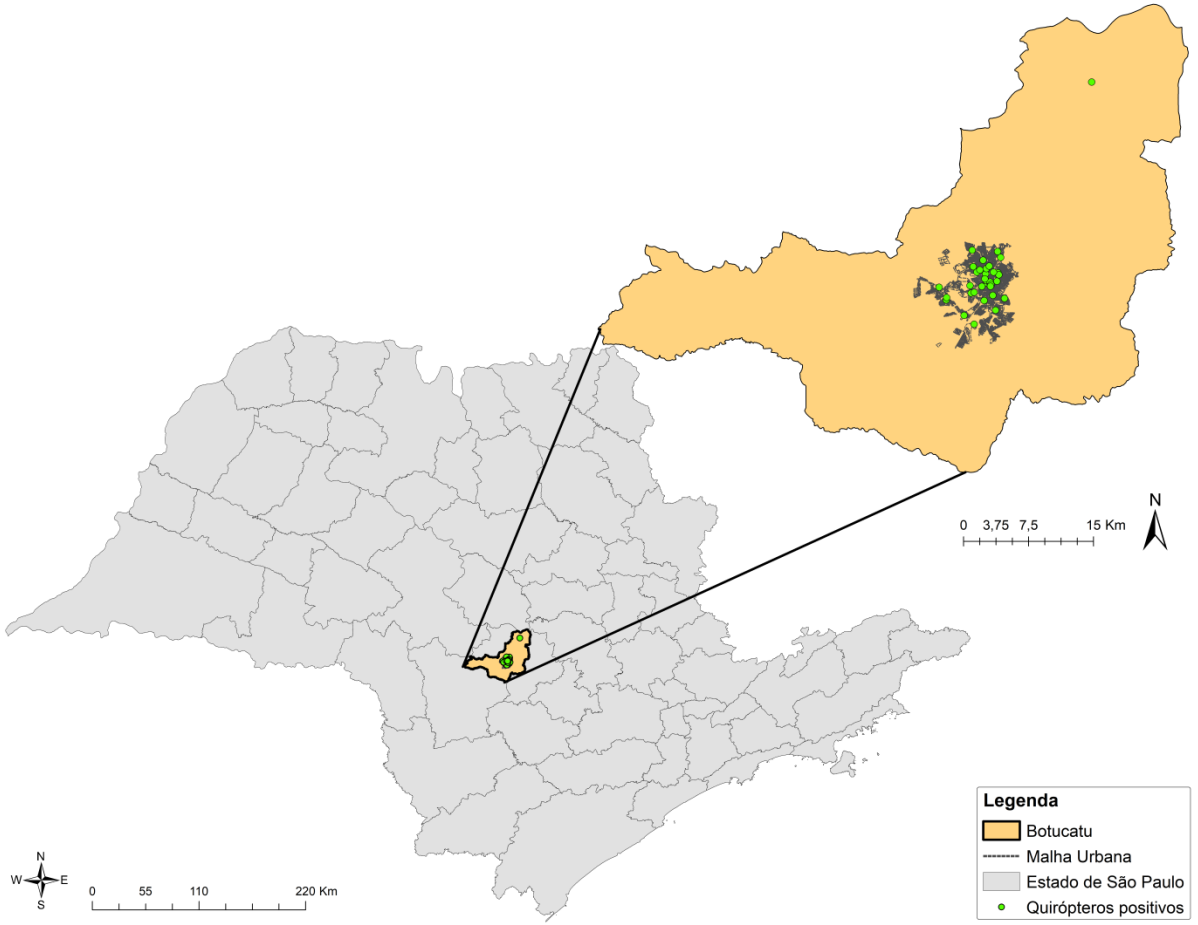


Figura 6. Localização do município de Botucatu no Estado de São Paulo e os locais de recolhimentos de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR, como parte das atividades de vigilância passiva da Raiva, no período de 2003 a 2018. Botucatu/SP, 2019.

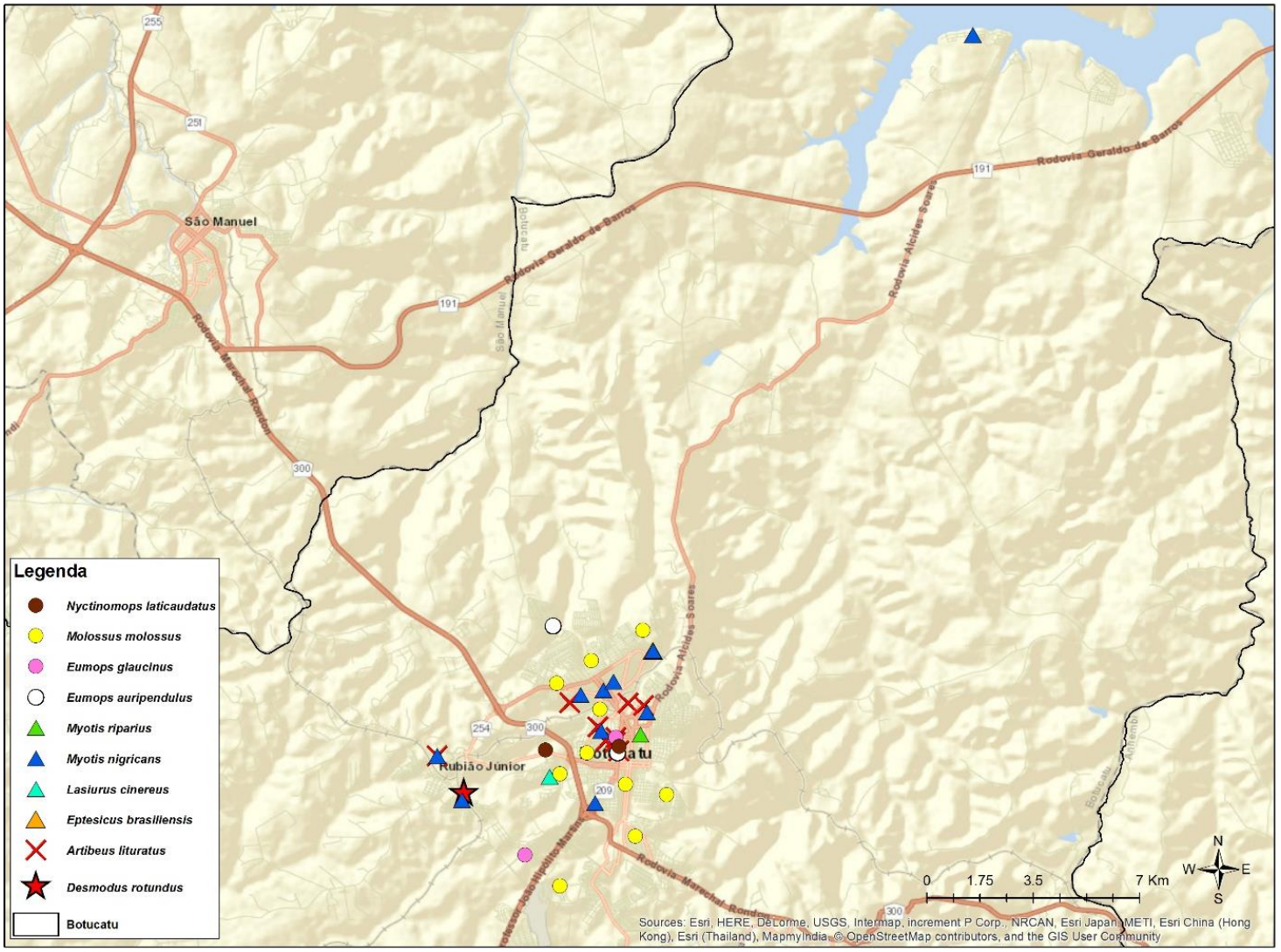


Figura 7. Georreferenciamento de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR no município de Botucatu, de acordo com a espécie. Botucatu/SP, 2019.

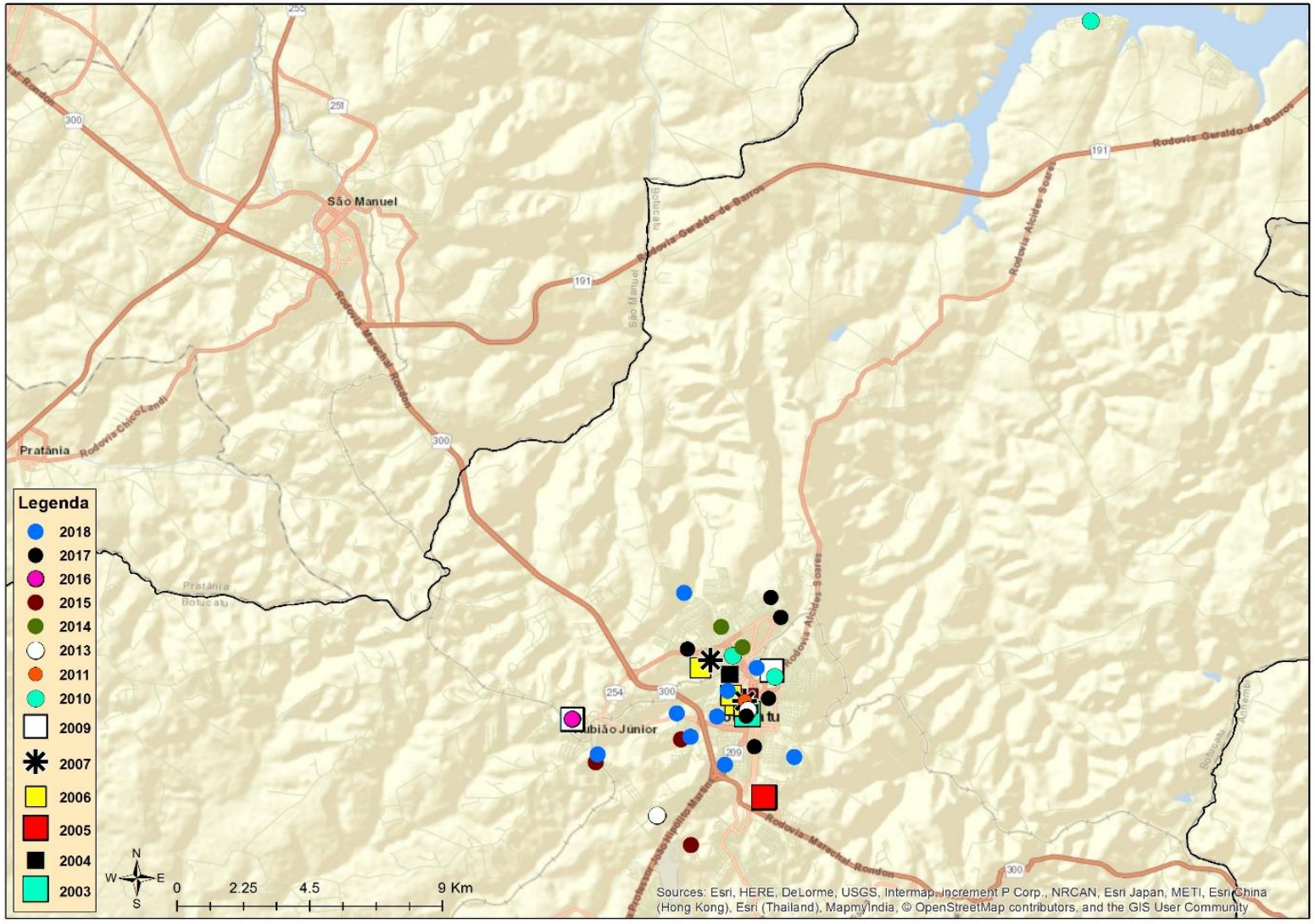


Figura 8. Georreferenciamento de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR no município de Botucatu, de acordo com o ano de recolhimento. Botucatu/SP, 2019.

Figura 9. Distribuição temporal, por ano de recolhimento, de quirópteros positivos para a infecção por VR no município de Botucatu no período de 2003 a 2018. Botucatu/São Paulo 2019.

Quadro 1. Dados epidemiológicos descritos nas fichas de encaminhamento de quirópteros positivos no diagnóstico da infecção pelo VR na região do município de Botucatu, São Paulo, no período de 2003 a 2018. Botucatu/SP, 2019.

ID	Município	Local de recolhimento	Contato[1]	Estado do animal	Encaminhamento[2]
233/03	Botucatu	Colisão com janela de prédio comercial durante o dia	Sem contato	Vivo, sintomático	N/A[3]
274/04	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Morto	N/A
180/05	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Morto	N/A
419/05	Botucatu	Pátio de escola pública	Sem contato	Morto	N/A
169/06	Bauru	Residência (área externa)	Sem contato	Vivo	N/A
245/06	Botucatu	Pátio de escola pública	Sem contato	Vivo	N/A
291/06	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Morto	N/A
320/06	São Manuel	Colisão com janela de prédio comercial durante o dia	Sem contato	Vivo	N/A
394/06	Botucatu	Prédio público (área interna)	Contato direto com humano (mordida na mão)	Vivo	PPE[4]
691/06	Botucatu	Biblioteca de escola pública	Sem contato	Vivo	N/A
96/07	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Vivo	N/A
206/07	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Morto	N/A
105/08	Dois Córregos	Residência (área interna)	Sem contato	Vivo	N/A
205/08	Piratininga	Residência (área externa)	Possível contato com cães	Vivo	Vacinação
211/08	Piratininga	Residência (área externa)	Contato com gato	Vivo	Vacinação
122/09	Botucatu	Prédio público (CEMPAS-UNESP, área externa)	Sem contato	Morto	N/A
204/09	Botucatu	Residência (área externa)	Contato direto com humano (arranhão na mão)	Vivo, sintomático	PPE
24/10	Botucatu	NR[5]	Sem contato	Morto	N/A
63/10	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Morto	N/A
270/10	Botucatu	NR	Sem contato	NR	N/A
59/11	Dois Córregos	Residência (área externa)	Sem contato	Morto	N/A
383/11	Botucatu	Residência (área interna)	Possível contato com gato	Vivo	Vacinação
354/12	Lençóis Paulista	NR	NR	NR	NR
102/13	Itatinga	Prédio público (prefeitura, área externa)	Sem contato	Vivo	N/A

214/13	Botucatu	Residência (área interna)	Contato com gato	Vivo	Vacinação
326/13	Botucatu	Prédio público (Fórum de justiça, área externa)	Sem contato	Morto	N/A
220/14	Botucatu	Encontrado na rua	Sem contato	Morto	N/A
304/14	São Manuel	Residência (área externa)	Possível contato com cães	Morto	Vacinação
329/14	Bauru	Residência (área interna)	Possível contato com gato	Vivo	Vacinação
459/14	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Morto	N/A
30/15	Botucatu	Caído na rua	Sem contato	Morto	N/A
240/15	Botucatu	Corredor interno de hospital público	Sem contato	Vivo	N/A
424/15	Botucatu	Residência (área externa)	Possível contato com cães	Vivo	Vacinação
425/15	Dois Córregos	Caído na rua	Sem contato	Morto	N/A
66/16	Botucatu	Prédio público (LDZ-UNESP, área externa)	Sem contato	Vivo	N/A
123/16	Anhembi	Residência (área externa)	Sem contato	Vivo	N/A
243/16	Anhembi	Residência (área externa)	Sem contato	Vivo	N/A
95/17	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Vivo	N/A
134/17	Bauru	Residência (área externa)	Contato direto com humano (tentou alimentar o morcego;arranhão na mão)	Vivo	PPE
258/17	Bauru	Residência (área externa)	Contato com cães	Vivo	Vacinação
471/17	Botucatu	Pátio de creche pública	Sem contato	Vivo	N/A
503/17	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Vivo	N/A
524/17	Botucatu	Sala de aula de escola privada	Sem contato	Vivo	N/A
545/17	Botucatu	Residência (área interna)	Sem contato	Vivo	N/A
605/17	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Vivo	N/A
606/17	Botucatu	Residência (área externa)	Possível contato com cão	Vivo	Vacinação
123/18	Botucatu	Residência (área interna)	Contato com gato	Morto	Vacinação
125/18	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Vivo	N/A
144/18	Botucatu	Residência (área interna)	Sem contato	Morto	N/A
221/18	Botucatu	Residência (área externa)	Contato direto com humano (mão)	Vivo	PPE

261/18	Botucatu	Residência (área externa)	Sem contato	Morto	N/A
321/18	Pardinho	Residência (área interna)	Contato direto com humano (rosto)	Vivo	PPE
358/18	Botucatu	Residência (área interna)	Contato com cão	Vivo	Vacinação
413/18	Botucatu	Residência (área interna)	Contato com cão	Vivo	Vacinação
516/18	Botucatu	Residência (área externa)	Contato com gatos	Morto	Vacinação
667/18	Avaré	Residência (área externa)	Sem contato	Morto	N/A
680/18	Botucatu	Residência (área externa)	Contato com cão	Morto	Vacinação

Legenda: [1]Informações sobre o contato do morcego positivo com outros animais ou com humanos e [2]sobre o encaminhamento do contactante para o atendimento médico ou veterinário para avaliação da exposição. [3]N/A= não se aplica. [4]*Post-exposure prophylaxis* (profilaxia pós-exposição). [5]NR= não relatado (sem informações).

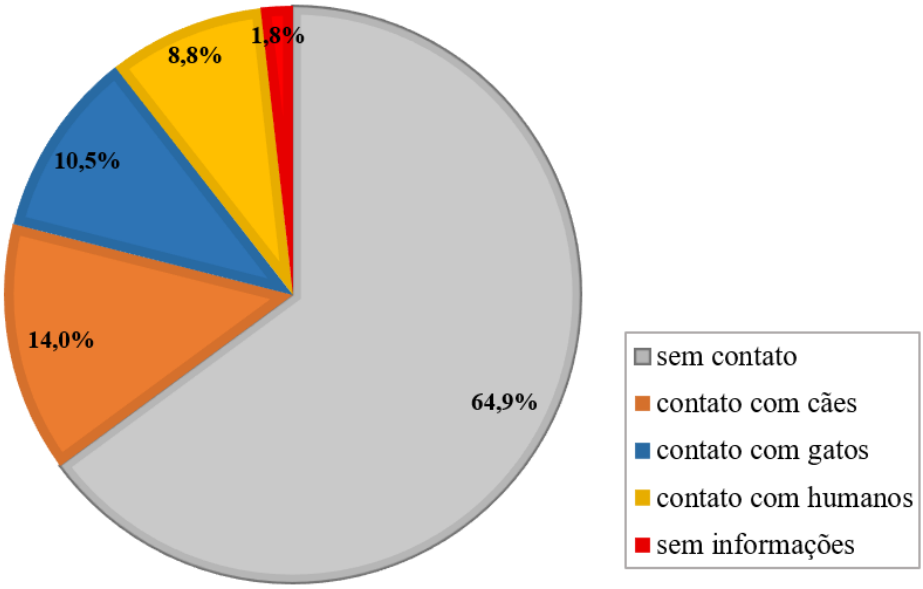


Figura 10. Ocorrência de contato com quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR na região do município de Botucatu, São Paulo, de 2003 a 2018, de acordo com a ficha de encaminhamento ao laboratório. Botucatu/SP, 2019.

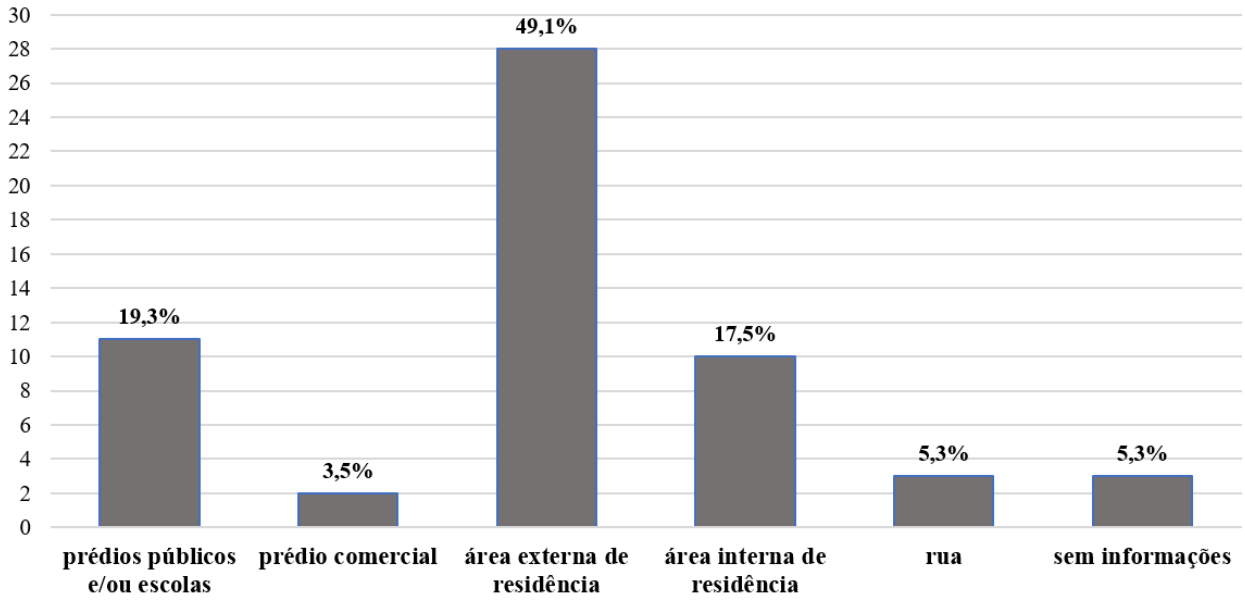


Figura 11. Informações sobre o local de recolhimento de quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR na região do município de Botucatu, São Paulo, de 2003 a 2018, de acordo com a ficha de encaminhamento ao laboratório. Botucatu/SP, 2019.

6. DISCUSSÃO

Para o melhor entendimento sobre a infecção pelo VR em quirópteros, a vigilância passiva da Raiva é uma das melhores ferramentas (Dato et al., 2016). Em países onde a Raiva em quirópteros causa mortes em humanos, essa vigilância é bem estruturada (Birhane et al., 2017), e é de grande importância, por meio dos dados aferidos é possível uma melhor resolução nas tomadas de decisões pelas autoridades de saúde pública.

No presente estudo, os quirópteros foram encaminhados ao SDZ pela prefeitura dos municípios da região de Botucatu, após solicitação de recolhimento pela população em geral, quando do encontro do animal em situação não habitual. Eventualmente, diretamente por algum indivíduo que possuía acesso direto à universidade e ao laboratório, como funcionários, residentes e/ou alunos, seguindo as recomendações para o envio e/ou entrega das amostras.

O aumento na população de quirópteros em áreas urbanas é acompanhado de uma intensificação de atividades de vigilância epidemiológica voltada a esses animais, fato relatado por Albas et al., (2005) na região Oeste do estado de São Paulo. Como consequência, a frequência de diagnóstico de Raiva positivo também aumentou e a identificação de circulação do vírus ocorreu mesmo em áreas onde a infecção pelo VR era considerada sob controle (Kotait et al., 2003).

No Brasil, de um modo geral, considera-se que há uma mudança no perfil da vigilância da Raiva, com relação às espécies animais enviadas para diagnóstico, observada desde o final dos anos 90, o que foi previsto e recomendado por Kotait et al. (2003). Esse processo representa, ou é acompanhado de, uma mudança no foco da vigilância, principalmente no estado de São Paulo, que tinha, à época, a Raiva transmitida por cães sob controle.

Assim, de acordo com o Ministério da Saúde, os casos de Raiva humana envolviam, em sua maioria, cães como a fonte de infecção até o ano de 2003. Após esse período, os morcegos assumiram este papel, sendo responsável por 16 mortes entre 2017 e 2018 (Brasil, 2019).

A mudança no perfil da vigilância é descrita em literatura, em trabalhos que, como este, analisaram dados de diagnóstico da Raiva em quirópteros. No Oeste paulista, no município de Presidente Prudente, os quirópteros correspondiam a 7,0% (8/112) do total de diagnóstico em 1996, passando a 79,0% (1.046/1.322) em 2003 (Albas et al., 2005). O mesmo cenário foi descrito no Noroeste paulista, no município de Araçatuba, onde nenhum quiróptero foi recebido em 1993, dentre um total de 112 amostras animais submetidas ao diagnóstico da Raiva, enquanto em 2007, 67,0% (405/601) das amostras eram de quirópteros (Queiroz et al., 2009). Em Campinas, o número de quirópteros enviados para diagnóstico passou de 53 em 2003, para 501 em 2014 (Rodrigues et al., 2017).

Outros estados também registraram um aumento no número de quirópteros examinados, como o Paraná. Dados mais recentes, registrados entre 2007 e 2015 em um levantamento realizado por Ribeiro et al. (2018), demostraram que a proporção entre as amostras de quirópteros e de outras espécies submetidas ao diagnóstico foi de 34,0% (52/153) em 2007, passando para, em média, 20,0% (940/4769) entre 2008 e 2015.

O interesse e necessidade de intensificar as ações de vigilância da Raiva em quirópteros também foi descrito em outros países. A maior representatividade de amostras de quirópteros com relação à parcela de amostras animais submetidas ao diagnóstico de Raiva foi relatada nos EUA, em um levantamento que descreveu que no ano de 2015 os morcegos representaram 25,0% (25.799/100.071) de todas as amostras submetidas ao diagnóstico de infecção pelo VR (Birhane et al., 2017).

Os dados de diagnóstico realizados no SDZ-FMVZ no período estudado corroboram a intensificação na vigilância da Raiva em quirópteros. Verificou-se que estes animais representaram, em média, 47,7% das amostras (animais) submetidas ao diagnóstico. Com exceção dos anos de 2008 e 2009, em que, respectivamente, 22,6% e 31,0% das amostras eram de quirópteros, esses animais sempre representaram, pelo menos, cerca de metade (50,0%) das amostras submetidas ao diagnóstico da Raiva, sendo que em sete (2004, 2005, 2006, 2014, 2015, 2017 e 2018) dos 16 anos estudados essa proporção foi superior a 50,0%.

O ano de 2018 foi aquele em que os quirópteros representaram, proporcionalmente, o maior número de amostras examinadas, com um percentual de 69,3%. Neste ano, o SDZ recebeu o maior número absoluto de quirópteros, totalizando 661 amostras, número expressivamente superior à média anual de 267 quirópteros, que representa 15,4% (IC 95%

14,4 – 16,5) do total de quirópteros recebidos em todo o período. Este foi o ano em que as amostras de quirópteros representaram a maior proporção (69,3%) em relação ao total de amostras de todas as espécies animais recebidas no SDZ, seguido de 2015 (59,6%). Situação que corrobora com a tese do incremento da vigilância passiva em quirópteros destes municípios, em especial Botucatu.

Assim, com base na análise descritiva dos dados do SDZ, pode-se verificar que os quirópteros representam um importante eixo da vigilância da Raiva animal na região do município de Botucatu, no período estudado.

Embora o SDZ tenha recebido amostras de 51 municípios distribuídos em oito GVE, quirópteros oriundos dos grupos de Botucatu e Bauru corresponderam a 99,8% (4271/4281) das amostras desses animais que foram submetidas ao diagnóstico no período estudado, e representam 82,3% (42/51) dos municípios que enviaram amostras. Os demais seis GVE (Assis, Campinas, Itapeva, Piracicaba, São José do Rio Preto e São Paulo), contribuíram com apenas 0,2% (10/4281) das amostras de quirópteros em todos os anos.

Em alguns destes municípios, nota-se que não há regularidade e/ou sistematicidade no envio de amostras de quirópteros para diagnóstico, que é base para uma boa vigilância. Isto pode ser exemplificado quando se avalia os dados de diagnóstico de amostras oriundas dos municípios de Anhembi, sem envio de amostras em 2004, e no período de 2006 a 2015, Piratininga entre 2003 e 2005, 2007, e entre 2012 a 2017, e Pardinho sem envio em 2006, entre 2009 e 2014, e 2016.

De modo contrário, o município de Botucatu submeteu amostras de quirópteros ao laboratório de modo sistemático, com uma média de aproximadamente 262 amostras a cada ano. Outros municípios também submeterem amostras anualmente, porém com uma média anual de amostras bastante inferior, como Dois Córregos (a partir de 2008, média de 12 amostras), Itatinga (a partir de 2003, média de seis amostras), Lençóis Paulista (a partir de 2003, média de cinco amostras) e São Manuel (a partir de 2003, exceto 2010, média de seis amostras).

Quanto à abrangência dos municípios que compõem os GVE de Botucatu e Bauru, houve praticamente a mesma representatividade para ambos. Dos municípios da GVE de Botucatu, 63,0% (19/30) enviaram amostras de quirópteros e do GVE de Bauru 61,0%

(23/38), número semelhante aos dados de Pereira et al. (2016) em diferentes regiões do estado do Pará entre 2005 e 2011, 68% (97/143). Apesar de parecerem números robustos quando comparados com outro levantamento no estado de São Paulo, 40% (261/645) de abrangência no levantamento de Scheffer, (2005) e Scheffer et al., (2007), e ainda mais importante quando a comparação é ampliada a outros estados brasileiros, como os dados de Pacheco, (2005) em levantamento de várias regiões de Minas Gerais, com 18% (156/853), vigilâncias mais estruturadas como a dos Estados Unidos, os números abrangem quase 100% do país (Birhane et al., 2017).

É importante destacar a dificuldade no levantamento dos dados de vigilância da Raiva em quirópteros, principalmente de outras regiões brasileiras que não a região sudeste. Tomando como base os EUA, que é referência mundial para a vigilância da infecção pelo VR, há um longo caminho a ser percorrido: dados dos últimos dez anos de vigilância, detalhados para 48 Estados (incluindo Alasca, Havaí e Porto Rico), estão disponíveis e podem ser acessados *on-line* (CDC, 2017).

Analisando-se a positividade de infecção pelo VR em quirópteros nos diferentes municípios que integram os GVE, 24,0% (10/42) dos municípios que enviaram espécimes de quirópteros e 15,0% (10/68) do total de municípios apresentaram pelo menos uma amostra positiva. Somente foram positivos quirópteros oriundos dos dois GVE que foram representativos quanto à submissão para diagnóstico no SDZ, GVE-Botucatu e GVE-Bauru. Resultados parecidos foram descritos por Casagrande et al. (2014) no Noroeste Paulista, com quirópteros positivos em 17,5% (7/40) dos municípios que submeteram amostras para diagnóstico.

As maiores frequências de infecção pelo VR foram verificadas nos anos de 2016 e 2017 nos municípios do GVE-Botucatu, com, respectivamente, 2,7% e 2,8% de positividade; enquanto no GVE-Bauru, o maior percentual ocorreu em 2008, com 7,1% de quirópteros positivos. Nos últimos seis anos (2013-2018), a positividade média dos quirópteros oriundos do GVE-Botucatu foi de 1,9%.

A frequência de quirópteros positivos em todo o período estudado foi de 1,3% (57/4.281; IC 95% 1,0 – 1,7), frequência muito semelhante à do município de Botucatu, individualmente, que apresentou 1,2% (40/3.289; IC 95% 0,9–1,6) de quirópteros com diagnóstico positivo entre 2003 e 2018. Em período anterior, de 1992 a 2000, foi descrito no

estudo realizado por Souza et al. (2005) um percentual de 0,2% (3/1.480) de quirópteros positivos no mesmo município. Baseando-se nesses dados, dois aspectos podem ser levantados, ao avaliarmos as médias anuais de quirópteros avaliados, 164 entre 1992 e 2000, e 205 entre 2003 e 2018, podemos dizer que houve um incremento na vigilância em quirópteros no município de Botucatu, e isso pode ter interferido na positividade. Também é possível ponderar que os nossos dados estejam mais perto da real frequência de infecção pelo VR em quirópteros no município de Botucatu.

No estado de São Paulo, apesar da pouca articulação entre as diversas esferas da vigilância como um todo, há uma vigilância bem estabelecida e há boa disponibilidade de dados. Os percentuais de positividade de infecção pelo VR em quirópteros descritos em municípios paulistas são bastante semelhantes ao relatado neste estudo: na capital paulista, registrou-se 0,7% (2/289) entre 1988 a 1992 (Almeida et al., 1994); 1,6% (58/3.552) entre 1996 e 2003 (Albas et al., 2005); e 0,9% (38/4.248) entre 2004 a 2013 (Almeida et al., 2015); na região Oeste do estado, 1,0% (11/1.113) entre 2006 e 2008 (Albas et al., 2011b); em Campinas, 2,2% (97/4.464) entre 2004 a 2014 (Rodrigues et al., 2017); em municípios de diferentes regiões do estado, Scheffer et al. (2007) descreveram 1,9% (82/4.393) de positividade entre 2002 e 2003. No Noroeste paulista, entre 1993 e 2007, foi descrito percentual idêntico ao verificado neste trabalho para o município de Botucatu, com 1,2% (50/4.035) de quirópteros positivos entre 1993 e 2007 (Queiroz et al., 2009), e de 1,7% (26/1.490) de 2008 a 2012 (Casagrande et al., 2014).

Estudos que abrangem um número maior de municípios descrevem percentuais também semelhantes, como o de Cunha et al. (2006), com 1,3% (98/7.393) de quirópteros positivos em 235 municípios, de 1977 a 2002; e de Scheffer et al. (2007), com 1,9% (82/4.393) de positividade em 261 municípios, de 2002 a 2003.

Em outras regiões brasileiras, como na região Centro-Oeste, no estado de Goiás, entre 1976 e 2001 a positividade em quirópteros foi de 4,5% (Santos et al., 2006); de 3,5% na região Sul, no Paraná, entre 2009 e 2014 (Laurindo et al., 2016); e de 0,4% na região Norte, no Pará, de 2005 a 2011 (Pereira et al., 2016).

Na América do Sul, foram registrados percentuais de positividade de 0,3% (40/1.321) na Colômbia, entre os anos de 1999 e 2008 (Núnez et al., 2012), e de 5,3% (1.286/25.501) no Chile, no período de 1985 a 2012 (Escobar et al., 2015b).

Os EUA apresentam uma estabilidade na positividade, registrados de 2010 a 2014, período em que mais de 110.000 quirópteros foram analisados, com média de positividade de 6,0%. Em 2015, o percentual foi de 6,6% (1.704/25.799), mesmo percentual apresentado pelo Canadá, no mesmo ano. Em 2014, a prevalência no Canadá foi inferior, de 4,8% (Birhane et al., 2017).

No Reino Unido, de 2005 a 2015 a positividade foi de 0,1% (7/6.891) para os quirópteros examinados (Wise et al., 2017). Na Alemanha, o percentual foi de 1,2% (55/4.713) entre 1998 a 2013 (Schatz et al., 2014).

A diversidade de espécies de quirópteros identificadas em nosso estudo, corresponderam a três famílias, de onze gêneros e doze espécies, a saber: família Molossidae (*M. molossus, E. glaucinus, E. auripendulus, N. laticaudatus*), Vespertilionidae (*M. nigricans, M. riparius, E. brasiliensis, L. cinereus, Histiotus spp.*) e Phyllostomidae (*A. lituratus, D. rotundus, A. Caudifer, G. soricina*), já relatadas com infecção pelo VR em levantamento de 2010 com uma atualização da lista de espécies já identificadas com infecção por VR, que abrange três famílias, 25 gêneros e 41 espécies (Sodré et al., 2010).

As espécies diagnosticadas positivas neste estudo foram também relatadas com a infecção por outros autores. Dentre elas, têm-se espécies amplamente distribuídas em áreas urbanas brasileiras densamente povoadas, como a cidade de São Paulo, *A. lituratus, G. soricina, E. brasiliensis, M. nigricans, M. riparius, M. molossus e N. laticaudatus* (Rosa et al., 2011; Almeida et al., 2015). Também em outros polos regionais paulistas importantes como Presidente Prudente, *A. lituratus, G. soricina e M. nigricans* (Albas et al., 2011b), e Araçatuba, *A. lituratus, M. nigricans, M. molossus e E. glaucinus* (Queiroz et al., 2009) e a espécie *D. rotundus* (Casagrande et al., 2014). Em um estudo que abrangeu diversos municípios de regiões paulistas diferentes, Oliveira et al. (2010) descreveram a infecção pelo VR nas espécies *M. nigricans, N. laticaudatus, L. cinereus, M. molossus* e o gênero *Histiotus*. Vieira et al. (2013), no Espírito Santo, relataram a infecção nas espécies *A. lituratus* e *D. rotundus*.

Duas espécies mereceram especial atenção por serem raramente citadas com infecção, não só no Brasil, mas também em toda América Latina (Escobar et al., 2015). Dados de infecção pelo VR em *E. auripendulus* e *A. caudifer* são citados por Uieda et al. (1996), mas há extrema dificuldade no acesso a esses dados. *E. auripendulus* é um quiróptero de hábito

alimentar insetívoro, espécie distribuída desde o sul do México até o norte da Argentina. No Brasil, essa espécie foi relatada em 14 estados, incluindo toda a região sudeste (Reis et al., 2007). *A. caudifer* alimenta-se de néctar de seiva de flores e é encontrado desde a Colômbia até a região noroeste da Argentina. No Brasil, há registros da espécie em quinze estados, em toda região Sul e Sudeste (Reis et al., 2007).

Quanto aos hábitos alimentares, os insetívoros representam a maioria (71,9%; 41/57) dos quirópteros positivos e identificados, seguidos dos frugívoros (21,1%; 12/57) e dos nectarívoros e hematófagos (3,5%; 2/57, cada). Nove espécies foram descritas na diversidade de quirópteros insetívoros diagnosticados positivos neste estudo, distribuídos em 80,0% (8/10), o que demonstra a elevada dispersão de espécies com esse hábito alimentar nas áreas urbanas. Isto foi também evidenciado por Almeida et al. (2015) na cidade de São Paulo, onde os insetívoros representaram 78,0% (11/14) dos quirópteros positivos, e por Casagrande et al. (2014) na região Noroeste paulista, com representatividade de 88,0% (23/26).

Ao avaliarmos individualmente o município de Botucatu, 75% (30/40) dos quirópteros diagnosticados positivos eram insetívoros, com um incremento entre 2010 e 2018, onde 89% (25/28) dos quirópteros positivos foram insetívoros. Se considerarmos apenas a distribuição das espécies de quirópteros e seus hábitos alimentares, 70,0% são insetívoros (NWF, 2018; IUCN, 2018), é factível dizer que esses achados são esperados, porém, de grande preocupação à saúde pública.

A presença maciça dessas espécies nas áreas urbanas, causada pela facilidade de abrigos proporcionados pelas estruturas das habitações humanas, como juntas de dilatação, forros, porões que oferecem aos morcegos insetívoros ótimas condições de abrigo e facilitam a sua adaptação, além de promover sua proximidade com os humanos e animais domésticos (Almeida et al., 2015). Outro fator importante é a iluminação proporcionada por lâmpadas de mercúrio, amplamente utilizadas nas ruas e avenidas, o que atrai insetos e, consequentemente, quirópteros com esse hábito alimentar (Rydell e Racey, 1995; Almeida et al., 2015). No hemisfério Norte, morcegos insetívoros são os principais transmissores da Raiva para humanos. Nos EUA, até 2015, espécies de quirópteros insetívoros foram responsáveis pela transmissão e por 41 mortes humanas (Dato et al., 2016). Na Europa, há uma emergência da Raiva humana nesse sentido (Fooks et al., 2003a).

Dos onze espécimes de quirópteros frugívoros positivos levantados, todos do gênero *Artibeus*, espécie *A. lituratus*, nove foram recolhidos e enviados pelo município de Botucatu, que no período estudado, apresentaram positividade em vários anos no período de 2003 e 2009, mas posteriormente, entre 2010 a 2017, houve uma lacuna importante, sem resultados positivos para frugívoros. Em 2018, um quiróptero com este hábito alimentar foi diagnosticado positivo.

Hipóteses para essa lacuna temporal, que podem ter contribuído isolada ou conjuntamente, são: diminuição do número de indivíduos da espécie, principalmente pela escassez na oferta de alimento após a criação da nova lei de urbanização do município, em 2010, que determinou a poda e eventual retirada de árvores, entre elas as frutíferas (Botucatu, 2010); "falha" na vigilância, causada por mudanças nos critérios de envio de quirópteros que estimula a liberação ao meio ambiente de exemplares sem histórico de contato com outros animais ou pessoas (Ribeiro et al., 2018); diminuição de animais não sadios ou com comportamentos não usuais que apresentem este hábito alimentar.

Na série estudada, foi expressiva a participação do município de Botucatu nas atividades de diagnóstico do SDZ, sendo responsável pelo envio de 77,0% (3.289/4.281) do total de amostras, e responde pelo percentual de 70,0% (40/57) dos quirópteros positivos. Isso pode ser explicado pela localização do laboratório credenciado no município, mas também demonstra a atuação das autoridades responsáveis pela vigilância do município.

A vigilância epidemiológica passiva da Raiva em quirópteros no município de Botucatu tem seu início no final dos anos 1990, com a criação de uma equipe na Prefeitura Municipal, ligada a Secretaria Municipal de Saúde voltada ao controle de zoonoses. Em 2003, com o diagnóstico do primeiro caso positivo de um quiróptero da espécie *A. lituratus* em área urbana da cidade (Langoni et al., 2005), as autoridades públicas municipais voltaram seus esforços para o aprimoramento de sua vigilância. Um deles foi a especialização de uma equipe para o manejo de quirópteros em áreas urbanas, que estabelecia, principalmente, a coleta e envio de quirópteros encontrados em situações não usuais nos limites do território do município. Além dos já citados incrementos na Vigilância Epidemiológica passiva para quirópteros, a proximidade com o laboratório de diagnóstico e a parceria do munícipio com a Universidade, é facilitador inconteste para o envio dessas amostras.

Neste estudo, não se realizou o georreferenciamento de todos os quirópteros submetidos ao diagnóstico de Raiva, incluindo-se os negativos, o que se deve, principalmente, ao grande volume de dados no abrangente período de estudo. Com isso, não foram utilizadas técnicas de análise espacial, que permitiriam determinar *clusters* e avaliação áreas quentes e riscos. Entretanto, o mapeamento dos casos positivos permitiu a visualização de sua ocorrência no território do município. Na análise de distribuição temporal das amostras positivas, observa-se uma sobreposição no decorrer dos anos, com ampla distribuição, desde o setor central (16), três deles em bairros limítrofes ao setor Leste, que se estendeu para os setores Norte (12), Oeste (9) sendo um exemplar *D. rotundus* e um insetívoro em região periurbana, e setor Sul (3). Quanto às espécies positivas no território de Botucatu, sua distribuição foi homogênea, ocorrendo ao menos cinco espécies diferentes em três setores distintos, indicando que há circulação do VR patente em insetívoros e frugívoros.

Analisando-se essa distribuição não uniforme dos casos nos mapas, pode-se questionar se os quirópteros e, consequentemente, a infecção pelo vírus rábico, também ocorre de modo não uniforme no território do município. Também não é possível inferir se a distribuição dos casos positivos reflete as áreas onde a vigilância atua. A não realização de georreferenciamento dos quirópteros negativos é uma limitação deste estudo e não permite conhecer as áreas do município onde a população está sensível para acionar a vigilância e o recolhimento dos quirópteros.

Na avaliação dos dados epidemiológicos contidos nas fichas de encaminhamento dos quirópteros positivos, onde se pretendeu verificar as circunstâncias em que esses animais foram encontrados e a necessidade de desencadear acesso aos serviços de saúde humana e/ou veterinária, verificou-se que em apenas 1,7% (1/57) não havia nenhuma informação (quiróptero identificado com a ID “354/12” no Quadro 1). A análise desses dados permite inferir, dentre outras informações, qual o perfil da população que acionou a vigilância para o recolhimento dos quirópteros, tendo em vista que os locais de recolhimento relatados com maior frequência foram em residências (66,0%), onde os quirópteros foram encontrados com quase três vezes mais frequência na área externa do que na área interna. Prédios públicos representaram o segundo local com que os quirópteros foram encontrados com maior frequência (19,3%).

Em 25,0% (14/57) dos casos, houve contato ou possível contato com animais de estimação, tanto cães, quanto gatos, sendo que na maioria deles (10/14) os quirópteros estavam vivos, o que pode representar risco de agressão. Apesar de a Raiva transmitida pelo

cão estar controlada em São Paulo, o último caso em cães pela AgV2 no estado foi há mais de 20 anos, há risco de transmissão pela predação de quirópteros infectados pelo VR por cães e gatos, esse último, de instinto caçador, pode se tornar um elo entre o ciclo aéreo e o ciclo terrestre (Almeida et al., 2015). Embora não seja tão comum, a exposição contínua do hospedeiro a uma nova estirpe, pode tornar viável uma adaptação (Parrish et al., 2008), dados da vigilância de 2015 a 2018 indicam que esse cenário pode ser factível em um futuro não distante. Nesse período, o estado de São Paulo foi responsável por quase metade, 45,5% (10/22) dos casos de Raiva em felinos do Brasil, um deles oriundo de Piracicaba e diagnosticado no SDZ-UNESP, e mantém em média, no mínimo um caso por ano registrado em cães.

Em 2018, o estado registrou dois casos da infecção pelo VR em cães, ambos com variantes de quirópteros, AgV3, mesma variante verificada em três mortes humanas que tiveram o gato como agressor, entre 2015 e 2017 (Brasil, 2019). Em Campinas, um gato foi diagnosticado positivo em 2014, e a investigação epidemiológica apontou que 11 pessoas tiveram algum tipo de exposição ao animal, e a linhagem caracterizada foi de morcego insetívoro *Nyctinomops sp* (De Lucca et al., 2017).

Na exposição direta de quirópteros com humanos, os casos caracterizados como agressões apresentaram 8,8% (5/57), e as espécies envolvidas foram *A. lituratus*, *M. nigricans* e *D. rotundus*. Quatro desses casos de agressões foram mordidas ou arranhões nas mãos. Uma das pessoas agredidas encontrou o quiróptero dentro do tanque de lavar roupas, e tentou alimentá-lo, e em outro caso o contato direto foi com o rosto do morador.

Em revisão dos casos de óbitos humanos nos Estados Unidos, Dato et al. (2016) relataram que em 17,1% (7/41) a exposição foi por meio de mordidas ou arranhões. Quirópteros não hematófagos sadios não tem o hábito de atacar, a não ser para proteção, quando se sentem ameaçados (Bredt, 1998). Entretanto, tratando-se da infecção pelo VR, um contato mesmo que superficial pode ser o suficiente para a transmissão, já que seus dentes são extremamente afiados, especialmente os insetívoros, altamente eficientes para a predação de presas artrópodes, além das garras afiadas no final dos polegares e pés (Dato et al., 2016).

No período estudado, portanto, houve duas agressões humanas por morcegos hematófagos relatada. No primeiro o relato foi que o indivíduo tentou afugentar o quiróptero que se alimentava do sangue de um equino em sua propriedade, e foi atacado no rosto, e no segundo um espécime de *D. rotundus* entrou na residência em sobrevoo e colidiu com a mão

do residente. Em nenhuma delas foi relatado que o morcego tenha tentado se alimentar de sangue humano.

Morcegos hematófagos da espécie *D. rotundus* são responsáveis por surtos da infecção pelo VR em humanos, no Brasil e na América Latina, principalmente na região Amazônica, quando atacam para se alimentar (Barbosa et al., 2007). O mais recente ocorreu em 2018, com 10 mortos em Melgaço, no Pará (Brasil, 2019).

O contato ou agressão de indivíduos por quirópteros representa um fato de extrema importância em saúde pública e também do ponto de vista econômico. No Brasil entre 2009 e 2013, os quirópteros representaram 0,7% das espécies animais agressoras, e o estado de São Paulo foi responsável por cerca 585 mil (20,0%) dos quase três milhões de atendimentos antirrábicos humanos registrados no Brasil (Brasil, 2019). Desde 2017, há um novo critério para a avaliação dos tipos de acidentes, e novas recomendações de tratamento dependendo das espécies agressoras (Brasil, 2017).

Prédios públicos e privados, acessados por um grande número de pessoas, que podem ser contactantes acidentais, também foram relatados como local de recolhimento neste estudo. Dez quirópteros foram encontrados em escolas, creches, prédios do Fórum, Prefeitura, faculdade e em corredor de hospital, sendo que sete deles estavam vivos. Dentre eles, um esteve envolvido em agressão humana, por mordida na mão.

Atualmente é possível estimar os custos que a Raiva acarreta em países onde ela ocorre, e alguns componentes estão inseridos nessa conta: mortalidade e perda de produtividade por morte prematura, morbidade por eventos adversos, vacinação usando vacinas de baixa qualidade, efeitos psicológicos de exposição, que são expressos como DALYs. Investimentos em prevenção, como vacinação de cães, e vigilância, diminuem exponencialmente o custo em DALYs (Hampson et al., 2015).

Sinais clínicos foram relatados em 4/57 (7,0%) dos quirópteros diagnosticados positivos, incluindo alteração neurológica, incoordenação motora, apatia, dificuldade de locomoção, choque contra vidraças e/ou voo diurno, características que podem ser consideradas como um sintoma de estado doentio do animal, possivelmente Raiva, como já foi mencionado por Uieda et al. (1995). Além disso, foram encontrados mortos na rua 5,3% (3/57) dos quirópteros positivos.

A base para uma boa vigilância epidemiológica está na estruturação de todos os elos que a compõem e a realizam, incluindo agentes de saúde, laboratório de diagnóstico e

tomadores de decisão (Dato et al., 2016; Maxwell et al., 2017; Leopardi et al., 2018). Há, no Brasil, áreas silenciosas para a Raiva. Em alguns estados a vigilância é deficiente e os dados referentes à doença são escassos (Kotait et al., 2003), os laboratórios têm sérios problemas estruturais, a parte física é insuficiente para absorver as demandas, há defasagem em número e em qualidade nos recursos humanos, e os insumos demoram a chegar. Questões como essa, relacionadas não somente à Raiva, mas também a outras zoonoses, foram apresentadas como prioritárias por 34 países da América Latina, Caribe e México em 2015 (Maxwell et al., 2017).

A realidade do estado de São Paulo é diferente, porém não menos preocupante. São oito laboratórios credenciados, de áreas distintas, saúde, agricultura e educação. A universidade tem papel importante na pesquisa e diagnóstico da Raiva, e em alguns anos houve baixas funcionais importantes, deixando uma lacuna na vigilância nas regiões onde atuam (Queiroz et al., 2009). É necessário que sejam revistas as prioridades na vigilância passiva da Raiva no Brasil, os laboratórios são parte de uma estrutura ampla, e precisam ter robustez, para que igualmente robusta seja a vigilância.

Um ótimo modelo de vigilância passiva da Raiva ocorre nos EUA. A vigilância monitora praticamente 100% das cidades dos 50 Estados do país, reunindo dados sobre as espécies envolvidas, as variantes do VR regionalizadas e conhecidas, e há pouquíssimas áreas silenciosas, que faz com que qualquer mudança no perfil epidemiológico da doença seja percebida, permitindo que medidas sejam tomadas em tempo hábil (Birhane et al., 2017). O diagnóstico laboratorial é custeado pelo Estado (quando há relato e comprovação de exposição), mas há também, seguindo algumas regras constituídas, o diagnóstico privado, alguns deles baseados nas universidades (Bonwitt et al., 2018).

Um aspecto importante a respeito do serviço diagnóstico realizado em universidades é a possibilidade de realizar investigações diagnósticas adicionais nos quirópteros recebidos, o que permite reunir e prover informações sobre o papel desses animais no ciclo de transmissão de diversas enfermidades. A discussão sobre a participação dos quirópteros na emergência e reemergência de zoonoses tem se intensificado. Em estudo recente, Olival et al., (2017), analisaram um banco de 2.805 associações vírus/mamíferos, incluindo 14% da diversidade global de mamíferos e todas as espécies de vírus conhecidas por infectarem mamíferos naquele momento. A conclusão foi de que os morcegos abrigam uma proporção significativamente maior de vírus zoonóticos quando comparados a outros mamíferos.

Um exemplo prático da associação entre a vigilância epidemiológica e atividades de pesquisa é descrito no Anexo I desta tese, em um manuscrito que descreve o caso de um dos quirópteros positivos no período estudado. O animal, da espécie *M. molossus* (identificado com a ID "240/15" no Quadro 1), foi encontrado no corredor de um hospital psiquiátrico. O diagnóstico de infecção pelo VR foi obtido mediante as técnicas preconizadas e descritas neste trabalho, mas, adicionalmente, com o auxílio de ferramentas moleculares realizou-se a caracterização da variante viral, o que traz informações que auxiliam no entendimento da circulação do VR no município. Além disso, também como atividades de pesquisa, o mesmo quiróptero foi diagnosticado com infecção pelo fungo *Histoplasma capsulatum*, agente da histoplasmose, o que consiste no primeiro relato de coinfecção por estes dois agentes em um morcego.

Em décadas passadas os quirópteros hematófagos estavam associados à transmissão do VR para humanos (Baer, 2007). O cenário atual é a da transmissão do VR por quirópteros não hematófagos para cães e gatos, que o transmitem para os humanos (Brasil, 2019). Não é difícil prever que em breve a transmissão será direta, sem intermediários, de morcegos não hematófagos para humanos, considerando que morcegos insetívoros, frugívoros e nectarívoros já frequentam o mesmo habitat que humanos nas cidades, e a exposição frequente, podem torna-la cada vez mais "natural". Situação evitável se houvesse planejamento na ocupação dos espaços, criação de áreas de preservação e preservação das áreas já existentes. O perfil epidemiológico mudou, e não acompanhamos a mudança, ficamos sempre um passo atrás. Por que não conseguimos perceber ou prever as mudanças, e mais, porque não conseguimos interferir a tempo?

A epidemiologia do VR em quirópteros não é estática e é provável que evolua de acordo com a ecologia (Bonwitt et al., 2018). Quanto mais dados epidemiológicos sobre as populações de quirópteros em centros urbanos catalogarmos, mais subsídios teremos para tomada de decisões, se, e quando uma mudança do perfil epidemiológico importante ocorrer.

7. CONCLUSÕES

Nos últimos 16 anos (2003 a 2018), estavam infectados com o VR 1,3% dos quirópteros submetidos ao diagnóstico de Raiva no SDZ-UNESP como parte das atividades de vigilância passiva da doença em diferentes municípios da região de Botucatu, São Paulo;

Há circulação do VR em, pelo menos, 15,0% (10/68) dos municípios pertencentes aos Grupos de Vigilância Epidemiológica de Botucatu e Bauru;

No município de Botucatu, isoladamente, o percentual de infecção em quirópteros foi semelhante àquele verificado para o conjunto de municípios que enviam amostras ao laboratório, de 1,2%, o que pode ser um reflexo da representatividade do envio de amostras desse município, que submeteu amostras de quirópteros sistematicamente em todos os anos analisados;

Há circulação viral em quatro das cinco regiões em que é dividido o município de Botucatu, particularmente em espécies de quirópteros insetívoros, mas também em frugívoros e, com menor frequência, em nectarívoros e hematófagos;

As amostras de quirópteros foram sempre superiores a um terço das amostras submetidas ao diagnóstico de Raiva animal no SDZ, no período estudado;

Todas as doze espécies de quirópteros diagnosticadas positivas para infecção pelo VR nesse estudo já foram relatadas em literatura, mas para duas delas, *Anoura caudifer* e *Eumops auripendulus,* os relatos são raros;

A maioria dos quirópteros diagnosticados com infecção pelo VR não apresentou sinais clínicos da doença, embora 3,6% deles tenham sido relatados com alterações;

No período estudado, a maioria dos quirópteros infectados com o VR não esteve em contato com animais domésticos ou o homem, mas em 8,8% dos casos houve relatos de agressão a indivíduos humanos e em 24,5% com cães e/ou gatos, o que representa um aspecto

importante de saúde pública, pelo risco de transmissão do vírus, e também econômica, pela necessidade de PPE ou acesso a cuidados veterinários;

A vigilância passiva parece estar consolidada em Botucatu, porém, a população precisa estar sensível, notificando quirópteros encontrados, o que poderia aumentar o número de quirópteros recolhidos e prover números mais fidedignos de prevalência da infecção pelo vírus rábico em quirópteros.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adomako B-Y, Baiden F, Sackey S, Ameme DK, Wurapa F, Nyarko KM, Kenu E, Afari E. **Dog Bites and Rabies in the Eastern Region of Ghana in 2013–2015: A Call for a One-Health Approach.** Journal of Tropical Medicine. 2018; ID 6139013: 1-5.

Aguiar LMS. **Família *Phyllostomidae*, Subfamíla *Desmodontinae*.** In: Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, Lima IP, editores. Morcegos do Brasil. Londrina: Universidade de Londrina; 2007. p. 39-43.

Aguiar TDF, Costa EC, Rolim BN, Romjin PC, Morais NB, Teixeira MFS. **Risco de transmissão do vírus da Raiva oriundo de sagui (*Clallithrix Jacchus*), domiciliado e semidomiciliado, para o homem na região metropolitana de Fortaleza, Estado do Ceará.** Rev Soc Bras Med Trop. 2011; 44(3): 356-363.

Albas A, Zoccolaro PT, Rosa TZ, Cunha EMS. **Diagnóstico laboratorial da Raiva na região oeste do Estado de São Paulo**. Rev Soc Bras Med Tro. 2005; 38(6): 493-495.

Albas A, Campos ACA, Araujo DB, Rodrigues CA, Sodré MM, Durigon EL, Favoretto SR**. Molecular characterization of rabies virus isolated from non-haematophagous bats in Brazil.** Rev Soc Bras Med Trop. 2011a; 44(6): 678-683.

Albas A, Souza EAN, Picolo MR, Favoretto SR, Gama AR, Sodré MM. **Os morcegos e a Raiva na região oeste do Estado de São Paulo**. Rev Soc Bras Med Trop. 2011b; 44(2): 201-205.

Almeida JD, Howatson AF, Pinteric L, Fenje P. **Electron microscope observations on rabies virus by negative staining.** Virology. 1962; 18: 147–151.

Almeida MF, Aguiar EAC, Martorelli LFA, Silva MMS. **Diagnóstico laboratorial da Raiva em Quirópteros em área metropolitana na região sudeste do Brasil**. Rev Saúde Públ. 1994; 28: 341-344.

Almeida MF, Rosa AR, Sodré MM, Martorelli LFA, Netto JT. **Fauna de morcegos (Mammalia, Chiroptera) e a ocorrência de vírus da Raiva na cidade de São Paulo, Brasil.** Vet e Zoo. 2015; 22(1): 89-100.

Allocati N, Petrucci AG, Di Giovanni P, Masulli M, Di Ilio C, De Laurenzi V. **Bat–man disease transmission: zoonotic pathogens from wildlife reservoirs to human populations**. Cell Death Discov. 2016; 2(16048): 1-8.

Amarilla ACF, Pompei JCA Araujo DB, Vázquez FA, Galeano RR, Delgado LM, Bogado G, Colman M, Sanabria L, Iamamoto K, Garcia R, Assis D, Recalde R, Martorelli LF, Quiñones E, Cabello A, Martini M, Cosivi O, Durigon EL, Favoretto SR. **Re-emergence of rabies vírus maintained by canid populations in Paraguay**. Zoonoses Public Hlth. 2018; 65(1): 222-226.

Anderson A, Shwiff SA. **The Cost of Canine Rabies on Four Continents**. Transbound Emerg Dis. 2015; 62(4): 446-52.

Antunes KD, Matos JCC, Mol LP, Oliveira MA, Arcebispo TLM, Santos VG, Oliveira TM, Fontes CC, Reis CHL, Diniz SA, Pereira PLL, Silva MX. **Descriptive analysis of rabies in wild animals in the Satate of Sergipe, Brasil**. Arq Bras Med Vet Zootec. 2018; 70(1): 69-173.

Anyiam F, Lechennea M, Mindekemd R, Oussigéréc A, Naissengar S, Alfaroukhc IO, Celine Mbiloa C, Moto DD, Colemane PG, Probst-Henscha N, Zinsstaga J. **Cost-estimate and proposal for a development impact bond for canine rabies elimination by mass vaccination in Chad**. Acta Tropica. 2017; 175: 112–120.

Arboleda-Flórez J. **The ethics of biomedical research on prisoners**. Curr Opin Psychiatry. 2005; 18: 514–517.

Ayalew Y. **Analysis of 159 human rabies cases in Ethiopia**. In: Kuwert E, Mérieux C, Koprowski H, Bogel K, editors. Rabies in the tropics. Berlin: Springer-Verlag; 1985. p. 481-484.

Babboni SD, Modolo JR. **Raiva: Origem, Importância e Aspectos históricos**. Cient Ciênc Biol Saúde. 2011; 13: 349-356.

Babes V. **Trait*é* de la Rage** [Internet]. 1912 [acesso em 10 Out 2018]. Disponível em: https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k5462676f/texteBrut.

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.

Baer GM). The history of rabies. In: Jackson AC, Wunner HW, editors. Rabies, 2ª ed. San Diego: Academic Press; 2007. p. 1-22.

Bahloul C, Jacob Y, Tordo N, Perrin P**. DNA-based immunization for exploring the enlargement of immunological cross-reactivity against the *Lyssavirus*es**. Vaccine. 1998; 16(4): 417-425.

Barbosa TFS, Rosa EST, Medeiros DBA, Casseb LMN, Pereira AS, Begot AL, Lima RJS, Nunes MRT, Vasconcelos PFC. **Epidemiologia molecular do vírus da Raiva no estado do Pará no período de 200 a 2005: emergência e transmissão por morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*).** Cad Saúde Colet. 2007; 15(3): 329-348.

Bazin H, (2007). **Saint Hubert, guérisseur de la rage de l'homme et des animaux**. Bull Soc Hist M*é*d Sci V*é*t. 2007; 7: 104–126.

Banyard AC, Hayman D, Johnson N, McElhinney L, Fooks AR. **Bats and *Lyssaviruses***. Adv. Virus Res. 2011; 79: 239–289.

Banyard AC, Hayman DT, Freuling CM, Muller T, Fooks AR, Johnson N. **Bat rabies**. In: Jackson AC, editor. Rabies: scientific basis of the disease and its management. Jackson AC. Oxford: Academic Press; 2013. p. 215–268.

Begeman L, Kessel CG, Finke S, freuling CM, Koopnans M, Müller T, Ruigrok TJH, Kuiken T. **Comparative pathogenesis of rabies in bats and carnivores, and implications for spillover to humans**. Lancet Infect Dis. 2018; 18: e147-159.

Bellini F, Fossati P, Liverini A. **L'evoluzione della rabbia attraverso i secoli**. Rassegna di Diritto Legislazione e Medicina Legale Vet. 2009; 8: 27–41.

Bijkerk P. Rabies. In: Bijkerk P, Suijkerbuijk AWM, Lugnér AK, Nijsten DRE, Hahné SJM, editors. **State of Infectious Diseases in the Netherlands, 2014**. Ministry of Health, Welfare and Sport, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven: MHWS; 2014.

Birhane MG, Cleaton JM, Monroe BP, Wadhwa A, Lillian A. Orciari LA, Yager P, Blanton J, Velasco-Villa A, Petersen BW, Wallace RM. **Rabies surveillance in the United States during 2015**. J Am Vet Med A. 2017; 250(10): 1117-1130.

Blaisdell, JD. **"A frightful, but not necessarily fatal, madness: rabies in eighteenth-century England and English North America"**. Retrospective Theses and Dissertations. Iowa State University; 1995.

Blancou, J. **Early methods for the surveillance and control of rabies in animals**. Sci Tech Int Off Epizoot. 1994; 13(2): 361–372.

Bonwitt J, Oltean H, Lang M, Kelly RM, Goldoft M. **Bat rabies in Washington State: Temporal-spatial trends and risk factors for zoonotic transmission** (2000±2017). PLoS ONE. 2018; 13(10): e0205069.

Botvinkin AD, Poleschuk EM, Kuzmin I, Borisova TI, Gazaryan SV, Yager P, Rupprecht CE. **Novel Lyssaviruses isolated from bats in Russia**. Emerg Infect Dis. 2003; 9: 1623–1625.

Botucatu. Prefeitura Municipal de Botucatu. Secretaria Municipal do Meio Ambiente. **Arborização Urbana - Orientação Técnica** [Internet]. 2010 [acesso em 15 Nov 2018]. Disponível em: https://mariano.viveiros.nom.br/docs/arb_urb-btu.pdf.

Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Relatório Final de Avaliação do Programa Nacional de Controle da Raiva no Brasil**. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, Organização Mundial da Saúde, Ministério da Saúde; 2002.

Brasil. Ministério da Saúde. **Nota: Informações sobre a Raiva canina por variante 3 de quiróptero**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS, Departamento de Vigilância de Doenças Transmissíveis – DEVIT, Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis – CGDT. Brasília: Ministério da Saúde; 2016.

Brasil. Ministério da Saúde. **Nota informativa: Alteração no esquema de profilaxia da Raiva humana** [Internet]. 2017 [acesso em 10 Dez 2018]. Disponível em: http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/agosto/04/Nota-Informativa-N-26_SEI_2017_CGPNI_DEVIT_SVS_MS.pdf.

Brasil. Ministério da Saúde. **Situação epidemiológica da Raiva no Brasil** [Internet]. 2018 [acesso em 19 Set 2018]. Disponível em: http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/Raiva/situacao-epidemiologica.

Brasil. Ministério da Saúde. **Situação epidemiológica da Raiva no Brasil** [Internet]. 2019 [acesso em 19 Jan 2019]. Disponível em: http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/31/15---Tabela-11.pdf.

Bravo TC. **Investigación documental de la primera epidemia de rabia registrada en la República Mexicana en 1709**. Sal Púb Méx. 1978; 20(6): 705-716.

Bredt A. **Morcegos em áreas urbanas e rurais: Manual de manejo e controle**. Ministério da saúde. Brasília: Fundação Nacional de Saúde; 1998. p. 117.

Buchy P, Preiss S, Singh V, Mukherjee P. **Heterogeneity of Rabies Vaccination Recommendations across Asia**. Trop Med Infect Dis. 2017; 2(3): 23, 1-17.

Canadá. Government of Canada. **Survellance of rabies** [Internet]. 2018 [acesso em 18 Set 2018]. Disponível em: https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/rabies/surveillance.html#a1.

Carini A. **Sur une grande epizootie de rage (On a large outbreak of rabies)**. Ann Institute Pasteur. 1911; 25: 843–46.

Carnieli PJr, Brandão PE, Castilho JG, Macedo CL, Machado CL, Machado LM, Kotait I. **Molecular epidemiology of rabies virus strains isolated from wild canids in northeastern Brazil**. Virus Res. 2006; 120(1-2): 113–120.

Carrara P, Parola P, Brouqui P, Gautret P. **Imported human rabies cases worldwide, 1990–2012**. PLoS Negl Trop Dis. 2013; 7(5): e2209.

Casagrande DKA, Favaro ABBBC, Carvalho C, Picolo MR, Hernandez JCB, Lot MS, Albas A, Araújo DB, Pedro WA, Queiroz LH. **Rabies surveillance in bats in Northwestern State of São Paulo**. Rev Soc Bras Med Tro. 2014; 47(6): 709-715.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Human rabies-Alberta, Canada, 2007**. MMWR Morb Mortal Wkly. 2008; 57(8): 197-200.

CDC. Centers for Diseases Control and Preventions. **Recovery of a patient from clinical rabies: California, 2011**. MMWR Morb. Mortal. Wkly. 2012; 61(4): 61–65.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Rabies. Annual Surveillance Reports in the United States** [Internet]. 2017 [acesso em 18 Set 2018]. Disponível em: https://www.cdc.gov/rabies/location/usa/surveillance/human_rabies.html.

Ceballos NA, Moron SV, Berciano JM, Nicolas O, Lopez CA, Juste J, Nevado CR, Setién AA, Echevarría JE. **Novel Lyssavirus in bat, Spain**. Emerg Infect Dis. 2013; 19(5): 793–795.

Childs JE, Real LA. **Epidemiology**. In: Jackson AC, Wunner HW, editors. Rabies 2ª ed. San Diego: Academic Press; 2007. p. 123-200.

Chong WK. Rabies in Kenya. In: Bishop GC, editor. **Proceedings of the Southern and Eastern African Rabies Group International Symposium**. Pietermaritzburg: WHO; 1993. p. 50-58..

Cleaveland S, Fevre EM, Kaare M, Coleman PG. **Estimating human rabies mortality in the United Republic of Tanzania from dog bite injuries**. Bulletin of the World Health Organization. 2002; 80(4): 304– 310.

Cliquet F, Picard-Meyer E, Robardet E. **Rabies in Europe: what are the risks? Expert Review of Anti-infective Therapy**. 2014; 12(8): 905-908.

Contou D, Dacheux L, Bendib I, Jolivet S, Rodriguez C, Tomberli F, Cleret de Langavant L. lavenir R, Lepelletier A, Larrous F, Troupin C, Bourhy H, Brun-Buisson C. **Severe ketoalkalosis as initial presentation of imported human rabies in France**. J Clin Microbiol. 2015; 53(6): 1979-82.

Corrêa MO, Lazar A, Dias D, Bonvicino CR. **Quirópteros hospedeiros de zoonoses no Brasil**. Bol Soc Bras Mastozool. 2013; 67: 23-38.

Cunha EMS, Silva LHQ, Lara MCCSH, Nassar AFC, Albas A, Sodré MM, Pedro WA. **Raiva em morcegos na região norte-noroeste do Estado de São Paulo, Brasil: 1997-2002**. Rev Saude Publ. 2006; 40(6): 1082-1086.

Dacheux L, Larrous F, Mailles A, Boisseleau D, Delmas O, Biron C, Bouchier C, Capek I, Muller M, Ilari F, Lefranc T, Raffi F, Goudal M, Bourhy H. **European bat Lyssavirus transmission among cats, Europe**. Emerg Infect Dis. 2009; 15: 280–284.

Dato VM, Campagnolo ER, Long J, Rupprecht CE. **A Systematic Review of Human Bat Rabies Virus Variant Cases: Evaluating Unprotected Physical Contact with Claws and Teeth in Support of Accurate Risk Assessments**. Plos One. 2016; 11(7): e0159443.

Dean DJ, Abelseth MK, Atanasiu P. **The fluorescent antibody test**. In: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H, editors. Laboratory techniques in rabies. 4th ed. Geneva: WHO; 1996. p. 88–95.

De Balogh KK, Wandeler AI, Meslin F-X. **A dog ecology study in an urban and a semi-rural area of Zambia**. Onderstepoort J Vet Res. 1993; 60(4): 437-443.

Debré P, (1994). **Louis Pasteur**. Flammarion, publishing co. Maryland: The John Hopkins University Press; 1994. p. 414-447.

Delpietro HA, Ghury-Dhoem F, Larghi OP, Mena-Sequera C, Abramo L. **Monoclonal antibody characterization of rabies virus strains isolated in the River Plate Basin**. Zentralblatt für Veterinärmedizin. 1997; 44(8): 477–483.

De Lucca T, Rodrigues RCA, Nitsche A, Von Zuben APB. **Ações de vigilância e controle da raiva frente a caso positivo em felino no munícípio de Campinas, São Paulo, Brasil**. Bol Epidemiol Paulista. 2017; 14(163): 29-37.

Deressa A, Hussen K, Abebe D, Gera D. **Evaluation of the Efficacy of Crude Extracts of Salix subserrata and Silene macroselen for the treatment of rabies in Ethiopia**. Ethiop Vet J. 2010a; 14(2): 1-16.

Deressa A, Ali A, Beyene M, Selassie BN, Yimer E, Hussen K. **The status of rabies in Ethiopia: A retrospective record review**. Ethiopian Journal of Health Development. 2010b; 24(2): 127–32.

De Serres G, Dallaire F, Côte M, Skowronski DM. **Bat Rabies in the United States and Canada from 1950 through 2007: Human Cases With and Without Bat Contact**. Clin Infect Dis. 2008; 46(9): 1329–1337.

Diaz AM, Papo S, Rodriguez A, Smith JS. **Antigenic Analysis of Rabies-virus Isolates from Latin America and the Caribbean**. Zoonoses Public Hlth. 1994; 41: 153-160.

DiMarco V. **The Bearer of Crazed and Venomous Fangs: popular myths and learned delusions regarding the bite of the mad dog**. Indiana: iUniverse; 2014.

Dlamini RX, Mathunjwa LD. **Rabies in Swaziland**. In: Bingham J, Bishop J, King AA, editors. Harare: Proceedings of the Third International Conference of the Southern and Eastern African Rabies Group. Harare: Fondation Marcel Mérieux; 1995. p. 53-54.

Dubail A. **Joseph Meister, le premier être humain sauvé de la rage**. Annuaire de la Soci*été* d'Histoire du Val de Vill*e*. 1985; 10: 93–148.

Duong V, Tarantola A, Ong S, Mey C, Bourhy H, Dussart P, Buchy P. **Laboratory diagnostics in dog-mediated rabies: An overview of performance and a proposed strategy in various settings**. Int J Infect Dis. 2016; 46: 107–114.

ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. **The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016**. EFSA journal. 2017; 15(12): 5077; 164-169.

ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. **Surveillance systems overview** [Internet]. 2018 [acesso em 21 Ago 2018]. Disponível em: https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-systems-overview-2016.

EFSA. AHAW, Panel on Animal Health and Welfare. **Scientific opinion – Update on oral vaccination of foxes and raccoon dogs against rabies**. EFSA Journal. 2015; 13(7):4164, 70 p.

Eggerbauer E, Pfaff F, Finke S, Höper D, Beer M, Mettenleiter TC, Nolden T, Teifke JP, Müller T, Freuling CM. **Comparative analysis of European bat Lyssavirus 1 pathogenicity in the mouse model**. PLoS Negl Trop Dis. 2017; 11(6): e0005668.

Escobar LE, Peterson AT, Favi M, Yung V, Pons DJ, Medina-Vogel G. **Ecology and Geography of Transmission of Two Bat-Borne Rabies Lineages in Chile**. Plos Negl Trop

Dis. 2013; 7(12): e2577.

Escobar LE, Peterson AT, Favi M, Yung V, Medina-Vogel G. **Bat-borne rabies in Latin America**. Revista de Medicina Tropical de São Paulo. 2015a; 57(1): 63-72.

Escobar LE, Restif O, Yung V, Favi M, Pons DJ, Medina-Vogel GM. **Spatial and temporal trends of bat-borne rabies in Chile**. Epidemiol. Infect. 2015b; 143(7): 1486–1494.

Favoretto SR, Carrieri ML, Cunha EM, Aguiar EA, Silva LH, Sodre MM, Souza MC, Kotait I. **Antigenic typing of Brazilian rabies virus samples isolated from animals and humans, 1989-2000**. Rev Med Tro São Paulo. 2002; 44(2): 91-95.

Favoretto SR, De Mattos CC, Morais NB, Carrieiri ML, Rolim BN, Silva LM, de Mattos CA. **Rabies virus maintained by dogs in humans and terrestrial wildlife in Ceará State, Brazil**. Emerg Infec Dis. 2006; 12(12): 1978–1981.

Fekadu M. **Rabies in Ethiopia. American Journal of Epidemiology**. 1982; 115: 266-73.

Fekadu M, Shaddock JH, Sanderlin DW, Smith JS. **Efficacy of rabies vaccines against Duvenhage virus isolated from European house bats (*Eptesicus serotinus*), classic rabies and rabies related viruses**. Vaccine. 1988; 6(6): 533-539.

Flamand A, Delagneau JF.**Transcriptional mapping of rabies virus in vivo**. J Virol. 1978; 28: 518–523.

Favoretto SR, Carrieri ML, Cunha EMS, Aguiar EAC, Silva LHQ, Sodré MM, Souza MCAM, Kotait I. **Antigenic typing of brazilian rabies virus samples isolated from animals and humans, 1989-2000.** Rev Inst Med Trop. 2002; 44(2): 91-95.

Fleming G. History. **Rabies and Hydrophobia: Their History, Nature, Causes, Symptoms, and Prevention**. London: Chapman and Hall; 1872. pp. 7-68.

Fisher DJ. **Resurgence of Rabies: A Historical Perspective on Rabies in Children**. Arch Pediatr Adolesc Med. 1995; 149(3): 306–312.

Foggin CM. **Rabies and rabies-related viruses in Zimbabwe: historical, virological and ecological aspects** [Tese]. Harare: University of Zimbabwe; 1988.

Fooks AR, McElhinney LM, Pounder DJ, Finnegan CJ, Mansfield KL, Johnson N, Brookes SM, Parsons G, White K, Mclntyre PG, Nathwani D. **Case report: isolation of a European bat *Lyssavirus* type 2 from a fatal human case of rabies encephalitis**. J Med Virol. 2003a; 7: 281–289.

Fooks AR, Brookes AR, Johnson N, McElhinney LM, Hutson AM. **European bat *Lyssavirus*: an emerging zoonosis**. Epidemiol Infect. 2003b; 131: 1029–1039.

Fooks AR. **The challenge of new and emerging *Lyssavirus*es, Expert Review of Vaccines**. 2004; 3:(4), 333-336.

Fooks AR, Banyard AC, Horton DL, Johnson N, McElhinney LM, Jackson. **Current status of rabies and prospects for elimination**. Lancet. 2014; 384(9951): 1389-1399.

Fusaro A, Monne I, Salomoni A, Angot A, Trolese M, Ferrè N, Mutinelli F, Holmes EC, Capua I, Lemey P, Cattoli G, De Benedictis P. **The introduction of fox rabies into Italy (2008–2011) was due to two viral genetic groups with distinct phylogeographic patterns**. Infection, Genetics and Evolution. 2013; 17: 202–209.

Gamgee J. **The cattle plague: with official reports of the International Veterinary Congress, Hamburg, 1863 and Vienna, 1865**. London: R. Hardwicke; 1866. p. 701-713.

Gautret P, Blanton J, Dacheux L, Ribadeau-Dumas F, Brouqui P, Parola P, Esposito DH, Bourhy H. **Rabies in Nonhuman Primates and Potential for Transmission to Humans: A Literature Review and Examination of Selected French National Data.** PLos Negl Trop Dis. 2014; 8(5): e2863.

Gregorin R, Tadei VA. **Chave artificial para determinação de molossídeos brasileiros (Mammalia: Chiroptera)**. Mastozoología Neotrop. 2002; 9:13–32.

Gummow B, Roefs YAA, de Klerk G. **Rabies in South Africa between 1993 and 2005- What has been achieved?** Jl S Afr vet Ass. 2010; 81(1): 16–21.

Gunawardena PS, Marston DA, Ellis RJ, Wise EL, Karawita AC, Breed AC, McElhinney LM, Johnson N, Banyard AC, Fooks AR. **Lyssavirus in Indian flying foxes, Sri Lanka. Emerging Infectious Diseases**. 2016; 22(8): 1456-1459.

Haider S. **Rabies: old disease, new challenges**. Can Med Assoc J. 2008; 178(5): 562-563.

Hampson K, Coudeville L, Lembo T, Sambo M, Kieffer A, Attlan M, Barrat J, Blanton JD, Deborah Briggs J, Cleaveland S, Costa P, Freuling CM, Hiby E, Knopf L, Leanes F, Meslin F-X, Metlin A, ME, Thomas T, Louis, Nel LH, Recuenco S, Rupprecht CE, Schumacher C, Taylor L, Vigilato MAN, Zinsstag J, Dushoff J. **Estimating the Global Burden of Endemic Canine Rabies**. PloS Negl Trop Dis. 2015; 9(4): e0003709.

Han HJ, Wen HL, Zhou CM, Chen FF, Luo LM, Liu JW, Yu XJ. **Bats as reservoirs of severe emerging infectious diseases.** Virus Res. 2015; 205: 1-6.

Hanlon CA, Kuzmin IV, Blanton JD, Weldon WC, Manangan JS, Rupprecht CE. **Efficacy of rabies biologics against new *Lyssavirus*es from Eurasia**. Virus Research. 2005; 111(1): 44–54.

Hanna JN, Carney IK, Smith GA, Tannenberg AE, Deverill JE, Botha JA, Serafin IL, Harrower BJ, Fitzpatrick PF, Searle JW. **Australian bat Lyssavirus infection: a second human case, with a long incubation period**. Med J Aust. 2000; 172(12): 597–599.

Hassell JM, Begon M, Ward MJ, Fèvre EM. **Urbanization and disease emergence: dynamics at the wildlife–livestock–human interface**. Trends Ecol Evol. 2017; 32(1): 55–67.

Hattwick MA, Weis TT, Stechschulte CJ, Baer GM, Gregg MB. **Recovery from rabies. A case report**. Ann Intern Med. 1972; 76(6): 931–942.

Hayman DTS, Fooks AR, Horton D, Suu-Ire R, Breed AC, Cunningham AA, Wood JLN. **Antibodies against Lagos Bat Virus in Megachiroptera from West Africa**. Emerg Infec Dis. 2008; 14(6): 926-928.

Hergert M, Le Roux K, Nel LH. **Characteristics of owned dogs in rabies endemic KwaZulu-Natal province, South Africa**. Vet Res. 2018; 14(278): 1-10.

Hooper PT, Lunt RA, Gould AR, Samaratunga H, Hyatt AD, Gleeson LJ, Rodwell BJ, Rupprecht CE, Smith JS, Murray PK. **A new Lyssavirus — the first endemic rabies-related virus recognized in Australia**. Bull Inst Pasteur. 1997; 95(4): 209–218.

Horton DL, Banyard AC, Marston DA, Wise E, Selden D, Nunez A, Hicks D, Lembo T, Cleaveland S, Peel AJ, Kuzmin IV, Rupprecht CE, Fooks AR. **Antigenic and genetic characterization of a divergent African virus, Ikoma *Lyssavirus***. J Gen Virol. 2014; 95(5): 1025-1032.

ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. ***Mononegavirales, Rhabdoviridae, Lyssavirus*** [Internet]. 2018 [acesso em 20 Out 2018]. Disponível em: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/negative-sense-rna-viruses/mononegavirales/w/rhabdoviridae/795/genus-Lyssavirus.

Instituto Pasteur. Secretaria de Estado da Saúde. Governo do Estado de São Paulo. **Diagnóstico de Raiva animal** [Internet]. 2019 [acesso em 10 Dez 2018]. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/instituto-pasteur.

Ito FH, Megid J. **Raiva**. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC, editores. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. São Paulo: Editora Roca; 2016. p. 799-824.

IUCN. International Union for Conservation of Nature. **Red List of threatened species** [Internet]. 2012 [acesso em 11 Nov 2018]. Disponível em: http://www.iucnredlist.org.

Jackson, A.C. **History of rabies**. In: Jackson AC, editor. Rabies, 3ª ed. San Diego: Academic Press; 2013. p. 1-15.

Kitala PM, McDermott JJ, Kyule MN, Gathuma JM. **Community-based active surveillance for rabies in Machakos District, Kenya**. Prev Vet Med. 2000; 44: 73-85.

Kobayashi Y, Sato G, Kato M, Itou T, Cunha EMS, Silva MV, Mota CS, Ito FH, Sakai T. **Genetic diversity of bat rabies viruses in Brazil**. Arch Virol. 2007; 152: 1995-2004.

Koprowski H. **The mouse inoculation test**. In: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H, editors. Laboratory techniques in rabies. 4ª ed. Geneva: WHO; 1996. p. 80-87.

Kotait I, Takaoka NY, Panachão MRI, Sodré MM, Figueiredo ACC, Schimonsky BV, Andrade AM, Silva LHQ, Pedro WA, Fábian MH. **Manejo de quirópteros em áreas urbanas**. Manual Técnico do Instituto Pasteur, nº 7 - Seminário Comemorativo dos 100 Anos do Instituto Pasteur. São Paulo: De Paula Print; 2003.

Kotait I, Carrieri ML, Carnieli P, Castilho JG, Oliveira RN, Macedo CI, Ferreira KCS, Achkar SM. **Reservatórios silvestres do vírus da Raiva: um desafio para a saúde pública**. Boletim Epidemiológico Paulista. 2007; 4(40): 1-8.

Kotait I. **Raiva – Aspectos gerais e clínica. Etiologia**. In: Kotait I, Carrieri ML, Takaoka NY, editores. Manual Técnico do Instituto Pasteur, 8ª ed. São Paulo: Instituto Pasteur; 2009. p. 2-6.

Kotait I, Oliveira RN, Carrieri ML, Castilho JG, Pereira PMC, Boere V, Montebello L, Rupprecht CE. **Non-human primates as a reservoir for rabies virus in Brazil**. Zoonoses Public Hlth. 2018; 65(8): 903-1026.

Kristensson K, Dastur DK, Manghani DK, Tsiang H, Bentivoglio M. Rabies: Interactions between neurons and viruses. A review of the history of Negri inclusion bodies. Neuropathol Appl Neurobiol. 1996; 22: 179–187.

Kuzmin IV, Bozick B, Guagliardo SA, Kunkel R, Shak JS, Tong S, Rupprecht CE. **Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited**. Emerg Health Threats J. 2011; 4: 1-17.

Kuzmin IV, Rupprecht CE. Bat Lyssaviruses. In: Wang L-F, Cowled C, editor. **Bats and viruses: a new frontier of emerging infectious disease**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc; 2015. pp. 47–98.

Langoni H, Cristina K, Menozzi BD, da Silva RC. **Rabies in the big fruit-eating bat Artibeus lituratus from Botucatu, Southeastern Brazil**. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2005; 11:84–87.

Laurindo EE, Barros Filho IR, Brandão APD, Gruber JGPF. **Avaliação da exposição humana ao vírus rábico pelo contato com morcegos, Paraná, 2009-2014**. RITA 2016: Proceeding of the XXVII International Meeting of Rabies in the Americas; 2016 Oct 23-28; Belém, Pará, Brazil. Ananindeua: Núcleo Editorial, IEC; 2006. p. 155-156.

Lembo T, Hampson K, Haydon DT, Craft M, Dobson A, Dushoff J, Ernest E, Hoare R, Kaare M, Mlengeya T, Mentzel C, Cleaveland S. **Exploring reservoir dynamics: a case study of rabies in the Serengeti ecosystem**. J Appl Ecol. 2008; 45: 1246-1257.

Lembo T, Hampson K, Kaare MT, Ernest E, Knobel D, Kazwala RR, Haydon DT, Cleaveland S. **The Feasibility of Canine Rabies Elimination in Africa: Dispelling Doubts with Data**. PLoS Negl Trop Dis. 2010; 4(2): e626.

Leopardi S, Priori P, Zecchin B, Poglayen G, Trevisiol K, Lelli D, Zoppi S, Scicluna MT, D'Avino N, Schiavon E, Bourhy H, Serra-Cobo J, Mutinelli F, Scaravelli, D, De Benedictis P. **Active and passive surveillance for bat lyssaviruses in Italy revealed serological evidence for their circulation in three bat species**. Epidemiol Infec. 2018; 147(e63): 1-6.

Liu Y, Zhang S, Zhao J, Zhang F, Hu R. **Isolation of Irkut Virus from a Murina leucogaster Bat in China**. PLoS Negl Trop Dis. 2013; 7(3): e2097.

Lvov DK, Shchelkanov MY, Alkhovsky SV, Deryabin PG. Front-matter. **Zoonotic Viruses in Northern Eurasia**. San Diego: Academic Press Elsevier; 2015. 452 p.

Ma X, Monroe BP, Cleaton JM, Orciari LA, Yager P, Li Y, Kirby JD, Blanton JD, Petersen BW, Wallace RM. **Rabies surveillance in the United States during 2016**. Journal of the American Veterinary Medicine Association. 2018; 252(8): 945-957.

Maki J, Guiot A-L, Aubert M, Brochier B, Cliquet F, Hanlon CA, King R, Oertli EH, Rupprecht CE, Schumacher C, Slate D, Yakobson B, Wohlers A, Lankau EW. **Oral vaccination of wildlife using a vaccinia–rabies-glycoprotein recombinant virus vaccine (RABORAL V-RG®): a global review**. Vet Res. 2017; 48(57): 1-26.

Markotter W, Randles J, Rupprecht CE, Sabeta CT,Taylor PJ, Wandeler AI, Nel LH. **Lagos Bat Virus, South Africa**. Emerg Infec Dis. 2006; 12(3): 504-506.

Marston DA, McElhinney LM, Johnson N, Müller T, Conzelmann KK, Tordo N, Fooks AR. **Comparative Analysis of the Full Genome Sequence of European Bat *Lyssavirus* Type 1 and Type 2 with Other *Lyssavirus*es and Evidence for a Conserved Transcription Termination and Polyadenylation Motif in the G-L 3' Non-Translated Region**. Journal of General Virology. 2007; 88: 1302–14.

Marston DA, Ellis RJ, Wise EL, Aréchiga-Ceballos N, Freuling CM, Banyard AC, McElhinney LM, de Lamballerie X, Muller T, Fooks AR, Echevarria JE. **Complete Genome Sequence of *Lleida Bat Lyssavirus***. Genome Announc. 2017; 5(2): e01427-16.

Masatani T, Ito N, Ito Y, Nakagawa K, Abe M, Yamaoka S, Okadera K, Sugiyama M. **Importance of rabies virus nucleoprotein in viral evasion of interferon response in the brain**. Microbiol Immunol. 2013; 57: 511-517.

Matsumoto S. **Electron microscopy of nerve cells infected with street rabies virus**. Virology. 1962; 17: 198–202.

Matsumoto T, Nanayakkara S, Perera D, Ushijima S, Wimalaratne O, Nishizono A, Ahmed K. **Terrestrial animal-derived rabies virus in a juvenile Indian flying fox in Sri Lanka**. Jpn J Infect Dis. 2017; 70(6): 693–695.

Maxwell MJ, MHFC, Hoet AE, Vigilato MAN, Pompei JC, Cosivi O, Vilas VJR. **Building the road to a regional zoonoses strategy: A survey of zoonoses programmes in the Americas**. PLoS ONE. 2017; 12(3): e0174175.

McElhinney LM, Marston DA, Leech S, Freuling CM, van der Poel WHM, Echevarria J, Vazquez-Moron S, Horton DL, Müller T, Fooks AR. **Molecular Epidemiology of Bat Lyssaviruses in Europe**. Zoonoses Public Hlth. 2013; 60: 35–45.

Mendes WS, Silva AAM, NeivaI RF, Costa NM, Assis MS, Vidigal PMO, Branco MRFC, Leite MGL, Rios JMT, Martins JOS, Neto, SJW. **An outbreak of bat-transmitted human rabies in a village in the Brazilian Amazon**. Ver Saude Publ. 2009; 43(6): 1075-1077.

Menezes R. **Rabies in Índia**. Can Med Assoc J. 2008; 178(5): 564-566.

Menozzi BD, Oliveira RN, Paiz LM, Richini-Pereira VB, Langoni H. **Antigenic and genotypic characterization of rabies virus isolated from bats (Mammalia: Chiroptera) from municipalities in São Paulo State, Southeastern Brazil**. Arch Virol. 2017; 62(5): 1201-1209.

Meslin F-X, Kaplan MM. **Laboratory Techniques in Rabies**. In: Meslin F-X, Kaplan MM, Koprowski H, editors. 4ª ed. Geneva: WHO; 1996. p. 476.

Messenger LS, SmithJS, Rupprecht CE. **Emerging epidemiology of bat-associated cryptic cases of rabies humans in United States**. Cin Infect Dis. 2002; 35(6): 738-747.

Mingo-Casas P, Sandonís V, Vázquez-Morón S, Berciano JM, Juste J, Echevarría JE. **Rabies in Spain. A Peculiarity in Eurasia**. Ann Virol Res. 2017; 3(2): 1030.

Modolo JR. **Campanhas de vacinação contra a Raiva da FMVZ - UNESP – Botucatu. Dia mundial contra a Raiva** [Internet]. 2011 [acesso em 08 Mar 2019]. Disponível em: www.worldrabiesday.org.

Monroe BP, Yager P, Blanton J, Birhane MG, Wadhwa A, Orciari L, Petersen B, Wallace R. **Rabies surveillance in the United States during 2014**. J Am Vet Med A. 2016; 2-16; 248(7): 777-788.

Müller T, Cox J, Peter W, Schäfer R, Johnson N, McElhinney LM, Geue JL, Tjørnehøj K, Fooks AR. **Spill-over of European bat Lyssavirus type 1 into a stone marten (Martes foina) in Germany**. J Vet Med Ser B. 2004; 51: 49–54.

Müller T, Johnson N, Freuling CM, Fooks AR, Selhorst T, Vos A. **Epidemiology of bat rabies in Germany**. Arch Virol. 2007; 152: 273–288.

Nadin-Davis SA, Huamg W, Armstrong J, Casey GA, Bahloul C, Tordo N, Wandeler AI. **Antigenic and genetic of rabies viruse from bat species indigenous to Canada**. Virus Res. 2002; 74(1-2): 139-156.

Nadin-Davis SA, Bingham J. **Europe as a source of rabies for the rest of the world**. In: King AA, Fooks AR, Aubert M, Wandeler AI, editors. Historical Perspective of Rabies in Europe and the Mediterranean Basin: A testament to rabies by Dr Arthur A. King. Paris: OIE (World Organisation for Animal Health); 2004. p. 259-280.

Nadin-Davis SA, Velez J, Málaga C, Wandeler AI. **A molecular epidemiological study of rabies in Puerto Rico**. Virus Res. 2008; 131(1): 8–15.

Nadin-Davis S, Alnabelseya N, Knowles MK. **The phylogeography of *Myotis* bat-associated rabies viruses across Canada**. PLoS Negl Trop Dis. 2017; 11(5): e0005541.

Navarro AM, Bustamante J, Alberto Sato A. **Situación actual y control de la rabia em el Perú**. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2007; 24(1): 46-50.

Negri LL. **Le diagnostic de la Rage par la Démonstration du Parasite Spécifique— Résultat de Dix Ans d'Expérience (Première et Deuxième partie)**. Ann Inst Pasteur J

Microbiol Publiées Sous Patronage M Pasteur Par E Duclaux. 1993; 27: 907–923 e 1039-1062.

Nel LH, Markotter W. ***Lyssavirus*es**. Crit Rev Microbiol. 2007; 33(4): 301-324.

Nel LH. **Discrepancies in Data Reporting for Rabies, Africa**. Emerg Infec Dis. 2013; 19(4): 529-534.

News and Reports, Exotic Diseases. **Exotic Rabies confirmed in an illegally imported dog in France**. Vet Rec. 2015; 176(22): 558.

Nguyen ATK, Nguyen TT, Noguchi A, Nguyen DV, Ngo GC, Thong VD, Olowokure B, Inoue S. **Bat *Lyssavirus*es, Northern Vietnam**. Emerg Infec Dis. 2014; 20(1): 161-163.

NICD-NHLS. Centre for Emerging and Zoonotic Diseases. Division of Public Health Surveillance and Response. Zoonotic Diseases. **Rabies, Limpopo Province**. Communicable Diseases Communiqué. 2014; 13(12): 5.

NICD-NHLS. Centre for Emerging Zoonotic and Parasitic Diseases. Zoonotic and Vector-Bourne Diseases. **An update on rabies in South Africa, 2018**. Communicable Diseases Communiqué. 2018; 17(10): 2.

Núñez C, Páez A, Hernández C, Escobar H, Bonelo A. **Transmisión del virus de la rabia entre murciélagos urbanos del departamento del Valle del Cauca, Colombia, 1999-2008**. Infectio. 2012; 16(1): 23-29.

Nutton V. **Understanding contagious diseases: Baillou's notes on Julien Le Paulmier's De morbis contagiosis**. Med & Storia. 2011; 11(21-22): 141-151.

NWF. National Wildlife Federation. **American Bats, Online Activity Guide** [Internet]. 2018 [acesso em 19 Out 2018]. Disponível em: https://www.csu.edu/cerc/researchreports/documents/BatsActivityGuide.pdf.

Ojo DT, Nwadike VU, Onyedibe KI, Kalu IE, Ojide KC. **Rabies in Nigeria: a review of literature**. Afr J Cln Exper Microbiol. 2016; 17(2): 159-163.

Olival KJ, Hosseini PR, Zambrana-Torrelio C, Ross N, Bogich TL, Daszak P. **Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals**. Nature. 2017;546(7660): 646–50.

Oliveira RN, Souza PS, Lobo RSV, Castilho JG, Carla Isabel Macedo CI, Pedro Carnieli P, Willian Oliveira Fahl WO, Samira Maria Achkar SM, Scheffer KC, Kotait I, Carrieri ML, Brandão PE, (2010). **Rabies virus in insectivorous bats: Implications of the diversity of the nucleoprotein and glycoprotein genes for molecular epidemiology**. Virology. 2010; 405: 352-360.

Omoke NI, Onyemaechi NOC. **Incidence and pattern of dog bite injuries treated in the emergency room of a teaching hospital South East Nigeria**. Afr J Med Health Sci. 2018; 17: 35-40.

Ortega-Pacheco A, Jimenez-Coello M. **La rabia canina, uma zoonosis latente em Yucatán**. Rev Biomed. 2017; 28(2): 61-63.

Pacheco CAC. Distribuição espaço-temporal da Raiva em quirópteros em Minas Gerais, Brasil, 1969 a 2003 [dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2005.

Páez A, Velasco-Villa A, Rey G, Rupprecht CE. **Molecular epidemiology of rabies in Colombia 1994-2005 based on partial nucleoprotein gene sequences**. Virus Res. 2007; 130(1-2):172–181.

Parrish CR, Holmes EC, Morens DM, Park E-C, Burke DS, Calisher CH, Laughlin CA, Saif LJ, Daszak P. **Cross-Species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases**. Microbiol Mol Biol Rev. 2008; 72(3): 457-470.

Passos ADC, Silva AAMCC, Ferreira AHC, Silva JM, Monteiro ME,Santiago RC. **Epizootia de Raiva na área urbana de Ribeirão Preto, SP, Brasil**. Cad Saude Publica. 1998; 14(4): 735-740.

Pastoret PP, Kappeler A, Aubert M. **European rabies control and its history**. In: King AA, Fooks AR, Aubert M, Wandeler AI, editors. Historical perspective of rabies in Europe and the Mediterranean Basin. Paris: OIE; 2004. pp. 337-50.

Pasteur L. **Méthode pour prévenir la rage après morsure**. Comptes Rendus des Séances de L'Académie des Sciences. 1885; 101: 765–774.

Paterson BJ, Butler MT, Eastwood K, Cashman PM, Jones A, David N Durrheim DN. **Cross sectional survey of human-bat interaction in Australia: public health implications**. BMC Public Health. 2014; 14(58): 2-8.

Pearce JMS. **Louis Pasteur and rabies: A brief note**. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2002; 73(1): 82.

Pemberton N, Worboys M. **Mad Dogs and Englishmen: Rabies in Britain 1830–2000**. In: Melling J, editor. Basingstoke: Palgrave Macmillan; 2007.

Pereira AS, Casseb LMN, Barbosa TFS, Begot AL, Brito RMO, Vasconcelos PFC, Rosa EST. **Prevalência de Raiva e perfil taxonômico em morcegos procedentes do Estado do Pará no período de 2005–2011**. RITA: Proceeding of the XXVII International Meeting of Rabies in the Americas; 2016 Oct 23-28; Belém, Pará, Brazil. Ananindeua: Núcleo Editorial, IEC; 2016. p. 299-300.

Perrot A e Schwartz M. **Pasteur et ses Lieutenants: Roux, Yersin et les autres**. Odile Jacob: Paris; 2013.

Peterson JH. **On the mad dog and the dog diseased; how they are to be kept, and cured.** Avesta [Internet]. 1995 [acesso em 17 Out 2018]. Disponível em: http://www.avesta.org/vendidad/vd13sbe.htm.

Picard-Meyer E, Barrat J, Tissot E, Barrat MJ, Bruyere V, Cliquet F. **Genetic analysis of European bat Lyssavirus type 1 isolates from France**. Vet Rec. 2004; 154: 589–595.

Picard-Meyer E, Servat A, Robardet E, Moinet M, Borel C, Cliquet F. **Isolation of Bokeloh bat Lyssavirus in Myotis nattereri in France**. Arch Virol. 2013; 158(11): 2333–2340.

Plowright RK, Parrish CR, Mccallum H, Hudson PJ, Ko AI, Graham AL. **Pathways to zoonotic spillover**. Nat Rev Microbiol. 2017; 15(8):502–10.

Poleschuk EM, Sidorov GN, Berezina ES. **Rabies of animal in Russia in 2007–2011 (in Russian)**. Russ Vet Journal Small Domest Wild Anim. 2012; 6: 8-12.

Queiroz LH, Carvalho C, Buso DS, Ferrari CIL, Pedro WA. **Perfil epidemiológico da Raiva na região Noroeste do Estado de São Paulo no período de 1993 a 2007**. Rev Soc Bras Med Tro. 2009; 42(1): 9-14.

Queiroz LH, Favoretto SR, Cunha EMS, Campos ACA, Lopes MC, Carvalho C, Iamamoto K, Araújo DB, Venditti LLR, Ribeiro ES, Pedro WA, Durigon EL. **Rabies in southeast Brazil: a change in the epidemiological pattern**. Arch Virol. 2012; 157(1): 93-105.

Rappuoli R. **Innerworkings: 1885, the first rabies vaccination in humans**. Proc Natl Acad Sci USA. 2014; 111: 12273.

Reis NR, Shibatta OA, Peracchi AL, Pedro WA, Lima IP. **Sobre os Morcegos Brasileiros**. In: Reis NR, Peracchi AL, Pedro WA, Lima IP, editores. Morcegos do Brasil. Londrina: Universidade Estadual de Londrina; 2007. p. 17-24.

Ribeiro J, Staudacher C, Martins CM, Ullman LS, Ferreira F, Araújo Jr. JP, Biondo AW. **Bat rabies surveillance and risk factors for rabies spillover in an urban area of Southern Brazil**. BMC Vet Res. 2018; 14: 173.

Ripani A, Mérot J, Bouguedour R, Zrelli M. **Review of rabies situation and control in the North African Region with a focus on Tunisia**. Rev Sci Tech Off Int Epiz. 2017; 36(3): 1-16.

Robertson K, Lumlertdacha B, Franka R, Petersen B, Bhengsri S, Henchaichon S, Peruski LF, Baggett HC, Maloney AS, Rupprecht CE. **Rabies-Related knowledge and practices among persons at risk of bat exposures in Thailand**. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5(6): e1054.

Rodrigues RCA, von Zuben APB, Lucca T, Reichmann MLAB. **Rabies vaccination campaigns in dogs and cats, and rabies positivity in bats, from 2004 to 2014, in Campinas, São Paulo, Brazil**. Epidemiol Serv Saude. 2017; 26(3): 621-628.

Rosa AR, Kataoka APAG, Favoretto SR, Sodré MM, Netto JT, Campos, ACA. Durigon EL, Martorelli LFM. **First report of rabies infection in bats, *Molossus molossus*, *Molossops neglectus* and *Myotis riparius* in the city of São Paulo, State of São Paulo, Southeastern Brazil**. Rev Soc Bras Med Tro. 2011; 44(2): 146-149.

Rosner F. **Rabies in the Talmud**. Medical History. 1974; 18(2): 198-200.

Rosset R. **Pasteur et la rage**. Bull Acad Vét de France. 1985; 58: 425-447.

Rosset R. **Pasteur et les veterinaires**. Bull Soc Fr Hist Méd Sci Vét. 2003; 2(2): 1-25.

Rotivel Y, Goudal M, Perrin P, Tordo N. **Une histoire de la vaccination contre la rage**. Virologie. 2002; 6: 89–104.

Rupprecht CE, Dietzschold B, Wunner WH, Koprowski H. **Antigenic relationships of *Lyssavirus*es**. In: Baer GM, editor. The Natural History of Rabies. Boca Raton: CRC Press; 1991. p. 69-100.

Rupprecht CE, Hanlon CA. Rabies. In: Evans AS, Kaslow RA, editors. **Viral Infections of Humans: Epidemiology and Control**. New York/London: Plenum Medical Book Company; 1997. p. 665-666.

Rupprecht CE, Hanlon CA, Hemachudha T**. Rabies re-examined**. Lancet Infect Dis. 2002; 2: 327–343.

Rupprecht CE. **Bats, emerging diseases, and the human interface**. PLoS Negl Trop Dis. 2009; 3(7): e451.

Rupprecht CE, Plotkin SA. **Rabies vaccines**. In: Plotkin S, Orestein W, Offit P, editors. Vaccines, 6ª ed. London: Saunders Print; 2013. p. 646–668.

Ruprecht CE, Kuzmin I, Meslin F. **Lyssaviruses and rabies: current conundrums, concerns, contradictions and controversies**. F1000Research. 2017; 6(F1000 Faculty Rev184): 2-22.

Rydell J, Racey PA. **Street lamps and the feeding ecology of insectivorous bats**. SympZool Soc London. 1995; 67:291-307.

Sabeta CT, Bingham J, Nel LH. **Molecular epidemiology of canid rabies in Zimbabwe and South Africa**. Virus Res. 2003; 91(2): 203–211.

Salmón-Mulanovich G, Vásquez A, Albújar C, Guevara C, Laguna-Torres VA, Salazar M, Zamalloa H, Cáceres M, Gómez-Benavides J, Pacheco V, Contreras C, Kochel T, Niezgoda M, Jackson FR, Velasco-Villa A, Rupprecht CE, Montgomery JM. **Human rabies and rabies in vampire and nonvampire bat species, Southeastern Peru, 2007**. Emerg Infec Dis. 2009; 15(8): 1308-1310.

Santos MFC, Resende RM, Sobrinho RN, Vieira S. **Diagnóstico laboratorial da Raiva no Estado e Goiás no período de 1976 a 2001**. Ciência Animal Brasileira. 2006; 7(1): 77-83.

Schatz J, Fooks AR, McElhinney L, Horton D, Echevarria J, Vázquez-Moron S, Kooi EA, Rasmussen TB, Müller T, Freuling CM. **Bat Rabies Surveillance in Europe**. Zoonoses Public Hlth. 2013; 60(1): 22–34.

Schatz J, Freuling CM, Auer E, Goharriz H, Harbusch C, Johnson N, Kaipf I, Mettenleiter TC, Mühldorfer K, Mühle R-U, Ohlendorf B, Pott-Dörfer B, Prüger J, Ali HS, Stiefel D, Teubner J, Ulrich RG, Wibbelt G, Thomas Müller T. **Enhanced Passive Bat Rabies**

Surveillance in Indigenous Bat Species from Germany - A Retrospective Study. PLoS Negl Trop Dis. 2014; 8(5): e2835.

Scheffer KC. **Pesquisa do vírus da Raiva em quirópteros naturalmente infectados no Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil** [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.

Scheffer KC, Carrieri ML, Albas A, Santos HCP, Kotait I, Ito FH. **Pesquisa do vírus da Raiva em quirópteros naturalmente infectados no Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil**. Rev. Saúde Pública. 2007; 41(3): 389-395.

Schneider MC, Almeida GA, Souza LM, Morares NB, Diaz RC. **Controle da Raiva no Brasil de 1980 a 1990**. Rev Saúde Pública. 1996; 30(2): 196-203.

Schneider MC, Belotto A, Adé MP, Leanes LF, Correa E, Tamayo H, Medina G, Rodrigues MJ. **Epidemiologic situation of human rabies in Latin America in 2004**. Epidemiol Bull. 2005; 26(1): 2-4.

Schneider MC, Belotto A, Adé MP, Hendrickx S, Leanes LF, Rodrigues MJ, Medina G, Correa E. **Current status of human rabies transmitted by dogs in Latin America**. Cad Saude Publica. 2007; 23(9): 2049-2063.

Schneider MC, Romijn P, Uieda W, Tamayo H, Silva D, Belotto A, Silva JB, Leanes LF. **Rabies transmitted by vampire bats to humans: an emerging zoonotic disease in Latin America?** Rev Panam Salud Publica. 2009; 25(3): 260-269.

Schneider MC, Aguilera XP, Junior JBS, Ault SK, Najera P, Martinez J, Requejo R, Nicholls RS, Yadon Z, Silva JC, Leanes LF, Periago MR. **Elimination of neglected diseases in Latin America and the Caribbean: a mapping of selected diseases**. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5(2): e964.

SES. Secretaria de Estado da Saúde. Governo do Estado de São Paulo. **Relação dos grupos e subgrupos de vigilância epidemiológica (gves / sgves)** [Internet]. 2018 [acesso em 12 Set 2018]. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/institucional/grupo-de-vigilancia-epidemiologica.

Shinwari MW, Annand EJ, Driver L, Warrilow D, Harrower B, Allcock RJN, Pukallus D, Harper J, Bingham J, Kung N, Diallo IS. **Australian bat Lyssavirus infection in two horses**. Veterinary Microbiol. 2014; 173(3-4): 224-231.

Shwiff SA, Brown VR, Dao TT, Elser J, Trung HX, Tien NN, Huong NT, NTT, Riewpaiboon A, Ernst K, Shwiff S, Payne D. **Estimating the economic impact of canine rabies to Viet Nam 2005–2014**. PLoS Negl Trop Dis. 2018; 12(10): e0006866.

Šimić I, Lojkić I, Krešić N, Cliquet F, Picard-Meyer E, Wasniewski M, Ćukušić A, Zrnčić V, Bedeković T. **Molecular and serological survey of Lyssaviruses in Croatian bat populations**. Vet Res. 2018; 14(274): 2-8.

Singh R, Singh KP, Cherian S, Saminathan M, Kapoor S, Reddy GBM, Panda S, Dhama K. **Rabies – epidemiology, pathogenesis, public health concerns and advances in diagnosis and control: a comprehensive review**. Vet Q. 2017; 37(1): 212-251.

Smreczak M, Orlowska A, Trebas P, Zmudzinski JF. **The first case of European bat Lyssavirus type 1b in bats (Eptesicus serotinus) in Poland in retrospective study**. Bull Vet Inst Pulawy. 2009; 53(4): 589–595.

Sodré MM, da Gama AR, de Almeida MF. **Updated list of bat species positive for rabies in Brazil**. Rev Inst Med Tro São Paulo. 2010; 52: 75–81.

Soubiran A, Théodoridès, J. **Guillotin et la rage: Un Mémoire inédit. Hist Sci Medicales**. 1981; 16: 227–238.

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**. 2005; Ars Vet. 21(1): 62-68.

Steele J H, Fernandez PJ**. History of rabies and global aspects**. In: Baer, G. M, editor. The Natural History of Rabies, 2ª ed. Boca Raton: CRC Press; 1991. p 1-24..

Swabe J. **Folklore, perceptions, science and rabies prevention and control**. In: King AA, Fooks AR, Aubert M, Wandeler AI, editors. Historical Perspective of Rabies in Europe and the Mediterranean Basin. Paris: OIE - World Organization for Animal Health; 2004. p. 311–323.

Takaoka NY. **Raiva humana no estado de São Paulo**. Anais do Seminário Internacional de Raiva, 2003. São Paulo: Instituto Pasteur; 2003.

Tarantola A. **Four thousand years of concepts relating to rabies in animals and humans, its prevention and its cure**. Trop Med Infect Dis. 2017; 2(5): 1-21.

Tarantola AP. **Epidemiology as a tool to improve prevention of human rabies local and global health implications of postexposure prophylaxis data, Institut Pasteur du Cambodge, 2003-2014**. [Tese]. Ecole Doctorale Pierre Louis de santé publique a Paris: Sorbonne Université; 2018.

Taylor LH, Hampson K, Fahrion A, Abela-Ridder B, Nel LH. **Difficulties in estimating the human burden of canine rabies**. Acta Tropica. 2017; 165: 133–140.

Teixeira LHM, Tomaz LAG, Linhares GFC, Santos MFC, Jayme VS. **Distribuição espaço-temporal dos diagnósticos laboratoriais da Raiva animal.** Ciência Animal Brasileira. 2015; 16(1): 144-157.

Tenzin T, Dhand NK, Gyeltshen T, Firestone S, Zangmo C, Dema C, Gyeltshen R, Ward MP. **Dog bites in humans and estimating human rabies mortality in rabies endemic areas of Bhutan**. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5(11): e1391.

Théodoridès J. **Dupuytren et la rage**. Hist Sci M*é*dicales. 1978; 12(3): 241–248.

Théodoridès J. **Magendie et la pathologie infectieuse**. Hist Sci Medicales. 1983; 17(4): 367–380.

Théodoridès J, Lépine P. In: Lépin P, editor. Histoire de la Rage: Cave Canem. Paris: Fondation Singer-Polignac- Masson; 1986. p. 289.

Tierkel ES. **Canine rabies**. In: Baer GM, (editor). The natural history of rabies. Boca Raton: CRC Press; 1975. p. 123-137.

Tordo N, Poch O, Ermine A, Keith G, Rougeon F. **Completion of the rabies virus genome sequence determination: Highly conserved domains among the L (polymerase) proteins of unsegmented negative-strand RNA viruses**. Virology. 1988; 165: 565–576.

Tricou V, Bouscaillou J, Mebourou EK, Koyanongo FD, Nakouné E, Kazanji M. **Surveillance of Canine Rabies in the Central African Republic: Impact on Human Health and Molecular Epidemiology**. PLoS Negl Trop Dis. 2016; 10(2): e0004433.

Tsiodras S, Dougas G, Baka A, Billinis C, Doudounakis S, Balaska A, Georgakopoulou T, Rigakos G, Kontos V, Tasioudi KE, Tzani M, Tsarouxa P, Iliadou P, Mangana-Vougiouka O, Iliopoulos D, Sapounas S. **Re-emergence of animal rabies in northern Greec and subsequent human exposure, October 2012-March 2013**. Euro Surveill. 2013; 18(18): 20474; 1-5.

Uieda W, Harmani NMS, Silva MMS. **Raiva em morcegos insetívoros (Molossidae) do Sudeste do Brasil**. Rev Saude Publ. 1995; 29(5): 393-397.

Ureña PH. **Murciélagos**. In: Carlos Melendez, (editor). Sumario de la Natural historia de las Indias, Gonzalo Fernández De Oviedo (1526). México: Fondo de Cultura Economica; 1950. p. 171-172.

Vázquez-Moron S, Juste J, Ibanez C, Berciano JM, Echevarria JE. **Phylogeny of European bat Lyssavirus 1 in Eptesicus isabellinus bats, Spain**. Emerg Infect Dis. 2011; 17: 520–523.

Velasco-Villa A, Orciari LA, Juárez-Islas V, Gómez-Sierra M, Padilla-Medina I, Flisser A, Souza V, Castillo A, Franka R, Escalante-Mañe M, Sauri-González I, Rupprecht CE. **Molecular Diversity of Rabies Viruses Associated with Bats in Mexico and Other Countries of the Americas**. J Clin Microbiol. 2006; 44(5): 1697–1710.

Velasco-Villa A, Reeder AS, Orciari LA, Yager PA, Franka R, Blanton JD, Zuckero L, Hunt P, Oertli EH, Robinson LE, Rupprecht CE**. Enzootic rabies elimination from dogs and re-emergence in wild terrestrial carnivores, United States**. Emerg Infect Dis. 2008; 14: 1849–1854.

Velasco-Villa A, Escobar LE, Sanchez A, Shi M, Streicker DG, Gallardo-Romero NF, Vargas-Pino F, Gutierrez-Cedillo V, Damon I, Emerson G. **Successful strategies implemented towards the elimination of canine rabies in the Western Hemisphere**. Antiviral Res. 2017; 143: 1-12.

Vieira LFP, Pereira SRFG, Carnieli Jr. P, Tavares LCB, Kotait I. **Phylogeography of rabies virus isolated from herbivores and bats in the Espírito Santo State, Brazil**. Virus Genes. 2013; 46: 330–336.

Vigilato MAN, Clavijo A, Knobl T, Silva HMT, Cosivi O, Schneider MC, Leanes LF, Belotto AJ, Espinal MA. **Progress towards eliminating canine rabies: policies and perspectives from Latin America and the Caribbean**. Phil Trans R Soc B. 2013; 368(1623): 20120143.

Vizotto LD, Taddei VA. **A chave para determinação de quirópteros brasileiros**. Rev da Fac Filos Ciências e Let São José Rio Preto Bol Ciências. 1973; 1: 1–72.

Vos A, Nunan C, Bolles D, Müller T, Fooks AR, Tordo N, Baer GM. **The occurrence of rabies in pre-Columbian Central America: an historical search**. Epidemiol Infect. 2011; 139: 1445–1452.

Wada MY, Rocha SM, Maia-Elkhoury ANS. **Situação da Raiva no Brasil, 2000 a 2009**. Epidemiol Ser Saúde. 2011; 20(4): 509-518.

Wang L, Qing Tang Q, Liang G. **Rabies and rabies virus in wildlife in mainland China, 1990–2013**. Int J Infect Dis. 2014; 25: 122–129.

Warrel M. **Rabies and African bat *Lyssavirus* encephalitis and its prevention**. International Journal of Antimicrobial Agents. 2010; 36(1): 47–52.

Wasik B, Murphy M. **In the beginning**. In: Wasik B, (editor). Rabid: A Cultural History of the World's Most Diabolical Virus. New York: Penguin Group; 2013. p. 17-36.

Weyer J, Kuzmin IV, Rupprecht CE, Nel LH. **Cross-protective and cross-reactive immune responses to recombinant vaccinia viruses expressing full-length *Lyssavirus* glycoprotein genes**. Epidemiol Infect. 2008; 136(5): 670-678.

Weyer J, Msimang-Dermaux V, Paweska JT, le Roux K, Govender P, Coertse J, Markotter W, Nel LH, Blumberg LH. **A case of human survival of rabies, South Africa**. South Afr J Infect Dis. 2016; 31(2): 66-68.

WHO. World Health Organization. **Expert Committee on Rabies**. WHO Expert Consulation on Rabies. Geneva: WHO; 2013; p. 150.

WHO. World Health Organization**. Human rabies: 2016 updates and call for data**. Wkly Epidemiol Rec. 2017; 92(7): 77-88.

WHO. World Health Organization. **Rabies** [Internet]. Geneva: WHO; 2018a [acesso em 20 Out 2018]. Disponível em: http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rabies.

WHO. World Health Organization. **Health statistics and information systems** [Internet]. Geneva: WHO; 2018b [acesso em 20 Out 2018]. Disponível em: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_metrics_daly.

WHO. World Health Organization. **Expert Consultation on Rabies, third report**. Geneva: WHO Technical Report Series. 2018c; (1012).

Williams E. **The forgotten giants behind Louis Pasteur: Contributions by the veterinarians Toussaint and Galtier**. Vet Herit Bull Am Vet Hist Soc. 2010; 33: 33–39.

Wilkinson L. **Understanding the nature of rabies: an historical perspective**. In: Campbell JB, Charlton KM, (editors). Rabies. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1988. p. 1-23.

Wilkinson L. **History**. In: Jackson AC, Wunner HW, editors. Rabies. San Diego: Academic Press; 2002. p. 1-21.

Wise EL, Marston DA, Banyard AC, H. Goharriz H, Selden D, Maclaren N, Goddard T, Johnson N, Mcelhinney LM, Brouwer A, Aegerter JN, Smith GC, , D. L. Horton DL, Breed AC, Fooks AR. **Passive surveillance of United Kingdom bats for lyssaviruses (2005–2015)**. Epidemiol Infect. 2017; 145: 2445–2457.

Wu X, Hu R, Zhang Y, Dong G, Rupprecht CE. Reemerging Rabies and Lack of Systemic Surveillance in People's Republic of China. Emerg Infect Dis. 2009; 15(8): 1159-1164.

Yamada K, Noguchi K, Komeno T, Furuta Y, Nishizono A. **Efficacy of favipiravir (T-705) in rabies postexposure prophylaxis**. J Infect Dis. 2016; 213(8): 1253–1261.

Yin C, Zhou H, Wu H, Tao X, Rayner S, Wang S, Tang Q, Liang G. **Analysis on Factors Related to Rabies Epidemic in China from 2007-2011**. Virologica Sinica. 2012; 27(2): 132-143.

Zieger U, Marston DA, Shama R, Chikweto A, Tiwari K, Sayyid M, Horton DL. **The phylogeography of rabies in Grenada, Wet indies, and implications for control**. PLoS Negl Trop Dis. 2014; 8(10): e3251.

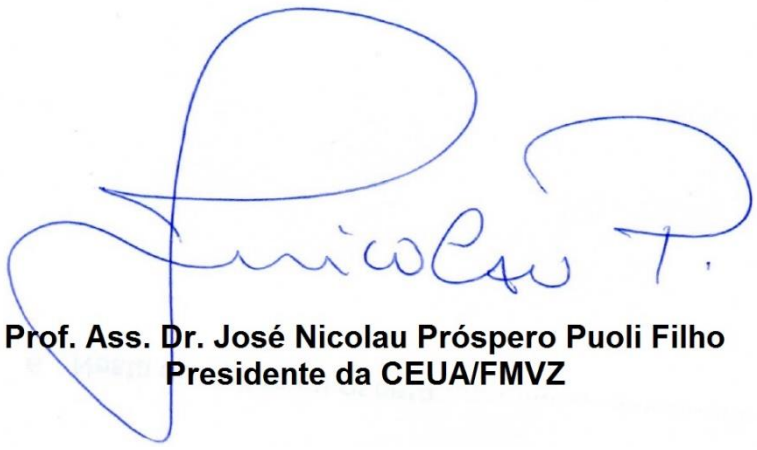
9. ANEXOS

9.1. Anexo I: Atestado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

A T E S T A D O

Atesto para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa **"Infecção pelo vírus rábico em quirópteros no Município de Botucatu, São Paulo e região no período de 2003 a 2018"** Protocolo nº 163/2015 - CEUA, do Professor Hélio Langoni, a ser conduzido por **Benedito Donizete Menozzi**, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta Faculdade no dia 11 de dezembro de 2015.

Botucatu 29 de janeiro de 2019.



Prof. Ass. Dr. José Nicolau Próspero Puoli Filho
Presidente da CEUA/FMVZ