

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA e CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE SUCÇÃO DE ENCÉFALO
DE MORCEGOS (CHIROPTERA, MAMMALIA) PARA
DIAGNÓSTICO DA RAIVA

Juliano Ferreira Gonçalves

Biólogo

ARAÇATUBA – SP

2008

AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE SUCÇÃO DE ENCÉFALO DE MORCEGOS (CHIROPTERA, MAMMALIA) PARA DIAGNÓSTICO DA RAIVA

Juliano Ferreira Gonçalves

Orientador: Prof. Dra. Luzia Helena Queiroz

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia - Unesp, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal).

ARAÇATUBA - SP

2008

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

G635a Gonçalves, Juliano Ferreira
Avaliação do método de sucção de encéfalo de morcegos
(Chiroptera, Mammalia) para diagnóstico da raiva / Juliano
Ferreira Gonçalves. - Araçatuba: [s.n.], 2008
37 f. : il. ; tab.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, 2008
Orientador: Profa. Adj. Luzia Helena Queiroz

1. Amostra-encéfalo 2. Aspiração mecânica-encéfalo 3. Crânio
4. Chiroptera 5. Técnicas e procedimentos de laboratório

CDD 636.0896



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Avaliação do método de sucção de encéfalo de morcegos (Chiroptera, Mammalia) para diagnóstico da raiva.

AUTOR: JULIANO FERREIRA GONÇALES

ORIENTADOR: Drª. LUZIA HELENA QUEIROZ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL (MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA E PRODUÇÃO ANIMAL) pela Comissão Examinadora.

Drª. ELENICE MARIA SEQUETIN CUNHA

Dr. WAGNER ANDRÉ PEDRO

Drª. LUZIA HELENA QUEIROZ

DATA DA REALIZAÇÃO: 26 de setembro de 2008.

Presidente da Comissão Examinadora
Drª. LUZIA HELENA QUEIROZ
- Orientadora -

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JULIANO FERREIRA GONÇALES - nasceu em Jundiaí - SP no dia 27 de julho de 1980. É Biólogo registrado no CRBio-1 sob nº. 56749/01-D. Possui graduação em Ciências Biológicas pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Penápolis - FAFIPE (2005) e iniciou oficialmente o curso de pós-graduação (mestrado) em Ciência Animal pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP no ano de 2007. Aprovado em concurso público em 2001 ingressou em 2002 como funcionário da Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), autarquia vinculada à Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, com atuação no controle de vetores por meio do uso de praguicidas. Estagiou, durante 2005 e 2006, na disciplina de Defesa Sanitária Animal, junto ao Laboratório de Raiva, com destaque no manejo e identificação de morcegos e diagnóstico laboratorial da raiva. Acompanhou o projeto de pesquisa com auxílio financeiro da FAPESP (processo 06/01247-6), auxiliando o mestrando Cristiano de Carvalho nas atividades de campo.

“O prêmio da boa obra é tê-la realizado.”

(Sêneca)

Dedico...

A Deus, que me conduz pela vida de acordo com o Seu projeto de amor.

A minha querida esposa Maria Lucia, pela imensa compreensão, por sempre acreditar em mim e por seu amor, e à minha filha Ana Laura que é um presente de Deus em minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Campus de Araçatuba, pela acolhida.

À Prof^a. Dr^a. Luzia Helena Queiroz pela orientação e pela dedicação demonstrada durante todo o trabalho. Sua presença foi constante e fundamental para a execução da pesquisa.

À minha mãe, Nadir, meu padrasto Reinaldo, minhas irmãs Camila e Michele, por tanto carinho, dedicação, confiança e amor incondicional.

À minha sogra, Maria, por sempre ter me motivado durante este mestrado.

À Prof^a. Ass. Dr^a. Silvia Helena Venturoli Perri pelo processamento e análise estatística de parte dos dados.

Ao biólogo Cristiano de Carvalho pela amizade, auxílio e colaboração no trabalho.

Às funcionárias da biblioteca do Curso de Medicina Veterinária – UNESP - Campus de Araçatuba, Isabel Pereira de Matos, Fátima Maria Metello Bertolucci e Alexandra Bento pelo carinho e pelas instruções.

Aos professores do curso pelos ensinamentos transmitidos.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigado.

SUMÁRIO**Página**

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3 MATERIAL E MÉTODO.....	17
4 RESULTADO E DISCUSSÃO	24
5 CONCLUSÃO.....	26
REFERÊNCIAS.....	27
APÊNDICE.....	33

AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE SUCÇÃO DE ENCÉFALO DE MORCEGOS (CHIROPTERA, MAMMALIA) PARA DIAGNÓSTICO DA RAIVA

RESUMO - O diagnóstico laboratorial da raiva em morcegos é realizado utilizando-se, principalmente, o encéfalo do animal suspeito. O objetivo do presente trabalho foi testar a hipótese de que o método de aspiração com pipeta plástica (tipo Pasteur) é eficaz na obtenção de encéfalo de morcegos para a realização do diagnóstico comparado com o método tradicional de abertura de crânio. Para tanto, estudaram-se quatro espécies diferentes de morcegos, *Molossus rufus* (E. Geoffroy, 1805), *Molossus molossus* (Pallas, 1766), *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) e *Myotis nigricans* (Schinz, 1821), totalizando 200 amostras. A quantidade de massa encefálica obtida pelo método tradicional foi significativamente maior, contudo, o material colhido pela aspiração foi suficiente para a execução do diagnóstico da doença. Ambos os métodos detectaram indivíduos positivos, sendo que o método de aspiração teve a vantagem de preservar o crânio possibilitando melhor identificação das espécies.

Palavras-chave: Amostra – encéfalo, aspiração mecânica – encéfalo, crânio, Chiroptera, técnicas e procedimentos de laboratório

EVALUATION OF SUCTION METHOD OF BAT BRAIN (CHIROPTERA, MAMMALIA) FOR RABIES DIAGNOSIS

SUMMARY - Rabies diagnosis in bats is usually performed using the brain of suspected animals. The main hypothesis tested by this work was that aspiration method using plastic pipette (Pasteur type) was effective in the collection of bat brain sample for rabies diagnosis when compared to the opening skull method. A total of two hundred bats of four species were studied: *Molossus rufus* (E. Geoffroy, 1805), *Molossus molossus* (Pallas, 1766), *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) and *Myotis nigricans* (Schinz, 1821). The proportion of brain weight compared to body weight was statistically higher when using the traditional method, although the brain mass collected by aspiration method was enough for rabies diagnosis. Results demonstrate that independently of the collecting method, both gated to detect positive samples and the aspiration method has the advantage of skull preservation, permitting the identification of the species.

Keywords: Brain – sampling, suction – brain, skull, Chiroptera, diagnostic techniques neurological

1 INTRODUÇÃO

A raiva é uma doença infecciosa aguda, causada por um *Lyssavírus* que acomete todos os mamíferos, inclusive os morcegos e o homem. Sua epidemiologia é, em parte, influenciada, pela distribuição, abundância, demografia, ecologia comportamental, dispersão das espécies de reservatórios, assim como pelas suas interações com os seres humanos (RUPPRECHT et al., 1995).

O conhecimento de aspectos ligados à patogenia e epidemiologia da raiva nas diferentes espécies de morcegos constitui importante instrumento para o controle da enfermidade nesses animais, bem como em herbívoros, animais de estimação e humanos (SCHEFFER et al., 2007).

Nas regiões norte e noroeste do estado de São Paulo, com municípios sede em Araçatuba, Presidente Prudente e São José do Rio Preto, no período de 1997 a 2002, foram registrados 98 casos de raiva em várias espécies de morcegos em áreas urbanas e rurais. A doença ocorreu predominantemente em morcegos frugívoros, com destaque para *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818), espécie com maior número de exemplares positivos nessas regiões (CUNHA et al., 2006).

No Estado de São Paulo, segundo normas do Programa Estadual de Controle da Raiva (KOTAIT et al., 1998), os municípios devem recolher os morcegos suspeitos e enviá-los para diagnóstico laboratorial por meio da imunofluorescência direta (DEAN et al., 1996) e de inoculação intracerebral em camundongos (KOPROWISKI, 1996). Segundo as normas de profilaxia da raiva humana no Estado de São Paulo, todos os casos de agressões por morcegos, animais considerados de alto risco, devem ser tratados com sorovacinação ou tratamento de re-exposição, conforme o caso (COSTA et al., 2000). Assim, os resultados laboratoriais, não influenciem na decisão de se proceder ou não um tratamento, como ocorre no caso de outras espécies. Entretanto, são importantes para o estudo da epidemiologia e para se instituir medidas de controle da doença.

Para a realização do diagnóstico da raiva, a colheita de encéfalo é feita tradicionalmente por meio da abertura do crânio com tesoura. Entretanto, este procedimento causa danos aos ossos, cujas características são importantes para a identificação da espécie, feita por meio de dados biométricos e morfológicos (VIZOTTO; TADDEI, 1973; GREGORIN; TADDEI, 2002; REIS et al., 2007). Essa identificação, por sua vez, é importante para a sistemática filogenética, que fornece subsídios para uma compreensão geral da diversidade biológica, da evolução dos táxons e da modificação de caracteres (AMORIN, 2002), já que o método comparativo vem sendo, desde os tempos de Darwin, uma das principais maneiras de estudar os padrões e processos da evolução biológica (DINIZ FILHO, 2000).

O método de sucção já foi utilizado por meio de pipeta plástica (tipo Pasteur), conforme citado por KING (1998), e indicado para situações nas quais não há a possibilidade da abertura do crânio e pelo uso de canudos de plástico introduzidos pelo forame magno, segundo EAST et al., (2001), para a coleta de amostras de cérebro de hienas mortas por acidentes. Além disso, a utilização da pipeta plástica demonstrou-se bastante útil para a coleta de encéfalo de animais silvestres de pequeno porte, destinados à pesquisa do vírus rábico, em área de preservação permanente no município de Ribeirão Grande, SP (IAMAMOTO, 2005).

Não foram encontradas na literatura, pesquisas que investigaram qualquer diferença de eficácia entre estes dois métodos de colheita de encéfalo. Considerando que o sucesso para a realização das técnicas depende de uma quantidade do órgão suficiente para efetuar o decalque na lâmina de imunofluorescência e para preparar o macerado que será utilizado na prova biológica e que havia sido comprovado, por meio de um treinamento prévio da técnica de sucção, que a quantidade de encéfalo colhida com a pipeta plástica foi suficiente para a realização dos dois procedimentos, esperava-se que a possível diferença na quantidade de massa encefálica obtida pelas duas técnicas não interferisse no diagnóstico da raiva.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo testar a hipótese de que o método de sucção com pipeta plástica (tipo Pasteur) é eficaz na obtenção de encéfalo para a realização do diagnóstico comparado com o método tradicional de abertura de crânio.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A palavra raiva provém do latim “rabere”, que significa delirar, desvairar, que por sua vez tem sua origem do sânscrito antigo, “rabhas”, cuja tradução é “fazer violência”. Na Grécia, as primeiras descrições da doença em cães realizaram-se por Demócritos, 500 a.C. e Aristóteles, no século IV a.C, que não reconheciam o acometimento de humanos. Em humanos o responsável pela primeira descrição foi Hipócrates (BERAN, 1994; STEELE; FERNANDEZ 1991 apud IAMAMOTO, 2005).

Foi a partir do século XIX que a ciência deu um grande salto no conhecimento da raiva e descobertas muito importantes ocorreram. Em 1804, Zinke demonstrou pela primeira vez que a raiva poderia ser transmitida pela saliva, contaminando incisões superficiais na pele do animal sadio com a saliva do animal doente (KAPLAN, 1985; STEELE; FERNANDEZ, 1991, apud IAMAMOTO, 2005).

O trabalho definitivo sobre a transmissão da raiva foi realizado por Louis Pasteur, que em 1881, concluiu que o sistema nervoso central (SNC) estava envolvido no desenvolvimento da doença, provando que o vírus não estava presente somente na saliva. Posteriormente, descobriu-se que, injetando-se o material de SNC de um animal raivoso diretamente no cérebro de outro animal, o período médio de incubação era de duas semanas. Em 1884, por meio de experimentos, ficou estabelecido que todo o SNC era suscetível à raiva, levantando ainda a suspeita de que o microorganismo seria extremamente pequeno (KAPLAN, 1985; STEELE ; FERNANDEZ 1991 apud IAMAMOTO, 2005).

Goldwasser e Kissiling, em 1958, reportaram a aplicação do teste de

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

A raiva é uma doença infecciosa aguda, causada por um vírus que acomete todos os mamíferos, inclusive o homem. O agente etiológico causador desta enfermidade é um vírus pertencente ao gênero *Lyssavirus*, da família Rhabdoviridae e da Ordem Mononegavirales.

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

Apesar de fazerem parte do ciclo de transmissão da raiva, os morcegos são animais muito úteis ao homem, pois algumas espécies insetívoras são responsáveis por consumir toneladas de insetos por ano. Apenas um morcego insetívoro é capaz de devorar mais de 600 mosquitos por hora, fazendo assim um rigoroso controle de população, contribuindo significativamente para a redução do uso de inseticidas químicos utilizados nas plantações, o que leva à produção de alimentos mais saudáveis.

Já os morcegos frugívoros espalham sementes de centenas de espécies de árvores, contribuindo desta forma para a recomposição de nossas florestas e matas. Uma variedade enorme de plantas depende quase que

exclusivamente dos morcegos para espalhar suas sementes, perpetuando as espécies.

O modo mais comum de transmissão da raiva é a mordida (RUPPRECHT et al., 1995) tendo como veículo do vírus a saliva.

Sempre que possível uma suspeita clínica de raiva deve ser confirmada por testes laboratoriais (KING, 1998). Os resultados laboratoriais influenciam tanto na decisão de se proceder ou não um tratamento, como na decisão de se instituir medidas para controle da doença. Além disso, permitem assegurar a eficácia e a segurança de produtos biológicos usados nos tratamentos de prevenção em humanos e animais (MESLIN et al., 1996).

Para o diagnóstico o principal tecido analisado é o cérebro, sendo que quando o resultado dessa prova é positivo, confirma-se o diagnóstico, porém, quando negativo, não se pode excluir a possibilidade de infecção (ACHA; SZYFRES, 2003). Recomenda-se que a imunofluorescência direta seja realizada paralelamente com a prova de inoculação em cultivo de células ou inoculação intracerebral em camundongos, método descrito por KOPROWSKI (1996) pelo qual o vírus é isolado e os sintomas das doenças são reproduzidos nestes animais.

Na região norte-noroeste do Estado de São Paulo, 98 morcegos, pertencentes a 17 espécies, foram identificados como positivos para raiva no período entre 1997 e 2002 (CUNHA et al., 2006).

Nos municípios de Araçatuba, Penápolis e São José do Rio Preto, foram registrados 4 casos de raiva em *Molossus ater* capturados em áreas urbanas (QUEIROZ DA SILVA et al., 1999). A denominação *Molossus rufus* (E. Geoffroy, 1805) foi posteriormente utilizada em substituição a *Molossus ater* (E. Geoffroy, 1805) seguindo-se os argumentos de Carter e Dolan (1978) e Dolan (1989), apud Gregorin (2002).

A raiva também ocorre em morcegos frugívoros, como por exemplo, *Artibeus lituratus*, que foi a espécie com maior número de exemplares positivos na região noroeste do Estado de São Paulo (CUNHA et al., 2006; QUEIROZ DA SILVA et al., 2001).

A preocupação com a presença do vírus rábico em morcegos com hábito alimentar frugívoro e insetívoro é relevante já que esses animais estão cada vez mais presentes em áreas urbanas (ALMEIDA et al., 1994). Estas espécies não-hematófagas possuem importantes funções de polinização, dispersão de sementes e predação de insetos principalmente em regiões tropicais. (RUPPRECHT et al., 2002).

Segundo o Programa Estadual de Controle da Raiva (KOTAIT et al., 1998), os profissionais da área de saúde e agricultura dos municípios recolhem os animais suspeitos e os enviam para o diagnóstico laboratorial da raiva. Os morcegos devem ser enviados inteiros para que seja feita a identificação da espécie de acordo com os dados biométricos e morfológicos descritos por Vizotto e Taddei (1973,1976), Carter e Dolan (1978), Dolan (1989); Pedro (1998), e Gregorin e Taddei (2002).

Além de serem identificados, estes espécimes podem ser agregados a coleções, nas quais permanecem guardados para permitir posteriores análises taxonômicas, com o intuito de ordenar filogeneticamente o conhecimento da ordem quiróptera e até propor hipóteses de evolução de estruturas e de relações entre grupos taxonômicos.

A sistemática filogenética fornece subsídios para uma compreensão geral da diversidade biológica, da evolução dos táxons e da modificação de caracteres (AMORIN, 2002), já que o método comparativo vem sendo desde os tempos de Darwin, uma das principais maneiras de estudar os padrões e processos da evolução biológica (DINIZ FILHO, 2000). Nesse sentido, o crânio que aloja o encéfalo e os órgãos dos sentidos é a estrutura mais complexa do esqueleto (ORR, 1986; STEBBINS et al., 1998). Também é rico em informações que servem de base para as pesquisas sobre as origens singulares, a filogenia, os processos ortogenéticos e o sucesso adaptativo dos Vertebrata (STEBBINS et al., 1998).

Dessa forma, em alguns trabalhos científicos, a retirada de encéfalo passou a ser feita também com pipetas plásticas descartáveis do tipo Pasteur,

com aspirações pelo forame magno, preservando-se a integridade do osso craniano (IAMAMOTO, 2005) e contribuindo para a identificação das espécies.

A aspiração do cérebro por meio da utilização da pipeta plástica (tipo Pasteur) foi citada por King (1998), indicando-a para situações sem possibilidade de abertura do crânio. East et al., (2001) utilizaram canudos de plástico ("plastic straw") para a coleta de amostras de cérebros de hienas mortas por carros, por leões ou por outros motivos, introduzindo os canudos pelo forame magno.

Estas foram as únicas referências encontradas em literatura sobre a retirada de cérebro por meio de aspiração, não tendo sido descritos estudos comparativos entre este método e a forma clássica de retirada por meio da abertura do crânio.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras

Foi utilizado no presente trabalho um total de 200 morcegos provenientes de municípios da região de Araçatuba (Figura 1), encaminhados ao Laboratório de Raiva da Universidade Estadual Paulista – Campus de Araçatuba, no período de agosto de 2005 a novembro de 2007. Apenas um morcego utilizado foi proveniente do município de Agudos, região de Botucatu, SP. De cada um deles, obteve-se uma amostra de encéfalo para a realização dos testes de imunofluorescência direta (IFD) e inoculação intracerebral em camundongos, segundo recomendações da OMS (MESLIN et al., 1996).

Os espécimes selecionados estavam em boas condições de conservação, isto é, ainda não haviam entrado em decomposição e haviam sido enviados sob refrigeração ou ainda vivos.

3.2 Delineamento experimental

3.2.1 Escolha das espécies de morcegos

As espécies incluídas no estudo, corresponderam àquelas recebidas

com maior frequência no laboratório, ou seja, *Molossus rufus* (E. Geoffroy, 1805) (80 espécimes), *Molossus molossus* (Pallas, 1766) (60 espécimes), *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) (40 espécimes) e *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (20 espécimes). Formaram-se dois grupos para cada espécie, segundo o método utilizado, sendo que cada grupo teve a mesma quantidade de espécimes, totalizando 100 amostras para cada método, uma vez que não seria possível utilizar o mesmo encéfalo para fazer os dois métodos. A Tabela 1 mostra o número de amostras utilizadas segundo a espécie e o município de origem.

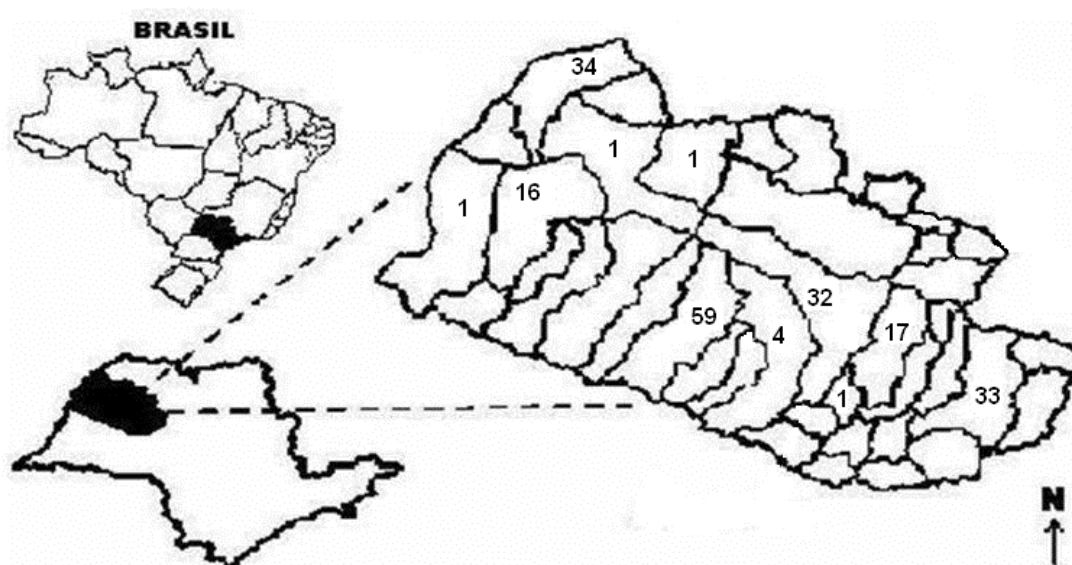


FIGURA 1 - Localização da região de Araçatuba, destacando os municípios que enviaram amostras para exame e a quantidade de espécimes de morcegos enviada, no período de agosto de 2005 a novembro de 2007. Araçatuba, 2008.

Foi escolhida uma faixa de peso correspondente a 10% a mais ou a menos do que a média descrita por Pedro (1998) para três destas espécies na idade adulta: *Molossus rufus*, *Artibeus lituratus* e *Myotis nigricans*. Para as amostras de *Molossus molossus* o critério de escolha da faixa de peso foi de 40% a menos ou igual à média descrita por Pedro (1998) para esta espécie, uma vez que os espécimes recebidos não conseguiram alcançar a faixa de

peso escolhida para as outras três, por corresponderem, em sua maioria, a indivíduos jovens ou por estarem, alguns deles, em estado de desidratação.

3.2.2 Escolha do método de retirada do encéfalo

A escolha do método pelo qual o encéfalo foi retirado (abertura de crânio ou a sucção com pipeta plástica) foi feita por meio de sorteio simples visando a casualização das amostras, as quais foram pesadas, sempre pela mesma pessoa (previamente treinada no novo método durante seis meses), em uma balança eletrônica de precisão (0,01g) devidamente calibrada, anotando-se o peso corporal, e em seguida, o peso do tecido cerebral retirado. O detalhamento de peso corporal e cerebral de cada uma das amostras, estão apresentados individualmente nas tabelas anexadas da dissertação.

Tabela 1 - Distribuição dos espécimes de morcegos segundo os métodos de retirada de encéfalo e municípios de procedência, no período de agosto de 2005 a novembro de 2007. Araçatuba, 2008

Espécie	Município	AC*	AP**	Total
<i>Artibeus lituratus</i>	Andradina	2	1	3
	Araçatuba	3	2	5
	Birigui	0	1	1
	Castilho	0	1	1
	Guararapes	0	1	1
	Ilha Solteira	2	1	3
	Valparaíso	13	13	26
<i>Molossus molossus</i>	Agudos	1	0	1
	Andradina	1	0	1
	Araçatuba	6	4	10
	Birigui	1	3	4
	Guararapes	0	2	2
	Ilha Solteira	19	7	26
	Penápolis	2	3	5
	Pereira Barreto	0	1	1
	Valparaíso	0	10	10
<i>Molossus rufus</i>	Andradina	8	4	12
	Araçatuba	11	6	17
	Bilac	0	1	1
	Birigui	7	5	12
	Guararapes	1	0	1
	Ilha Solteira	2	3	5
	Penápolis	10	18	28
	Sud Menucci	0	1	1
	Valparaíso	1	2	3
<i>Myotis nigricans</i>	Valparaíso	10	10	20
Total		100	100	200

*AC: Abertura de Crânio **AP: Aspiração com Pipeta

3.3 Proporção peso encefálico X peso corporal

A partir dos pesos obtidos dos animais, foi calculada e registrada para cada animal, por meio de uma regra de três, a proporção do peso encefálico em razão do peso corporal, denominada **PPERPC** e dada em porcentagem. Ela foi calculada multiplicando-se por 100 o peso do encéfalo retirado e dividindo-se esse resultado pelo peso integral do morcego, demonstrado na seguinte fórmula:

$$\text{PPERPC} = \text{PC} \times 100 / \text{PM},$$

Onde o PE representa o peso do encéfalo retirado e PM o peso integral do morcego. Esse parâmetro tornou-se mais coerente para a comparação, uma vez que os animais recebidos não eram da mesma espécie e não apresentavam pesos iguais. Os valores individuais da PPERPC para cada uma das espécies de morcegos avaliadas, estão apresentados nas tabelas em anexo do final da dissertação.

3.4 Coleta do encéfalo

3.4.1 Abertura do crânio

No método de abertura de crânio, a retirada do encéfalo foi feita com uma tesoura de aço inox, pequena, com ponta fina, devidamente afiada e esterilizada, cortando-se os tecidos que cobrem a cabeça e afastando-se os músculos que recobrem o crânio para uma melhor visualização do osso (Figura 2-A e B). Foram realizados três cortes, sendo o primeiro, na região orbital (Figura 3-A) por onde foram inseridas as pontas da tesoura e os seguintes nas duas laterais do crânio de modo a abrir a calota craniana (Figura 3-B). Uma vez totalmente exposto, o encéfalo foi retirado com a própria tesoura e, quando necessário, com o auxílio de uma pinça anatômica para que nenhum resíduo de encéfalo ficasse dentro da cavidade craniana (Figura 2-C).

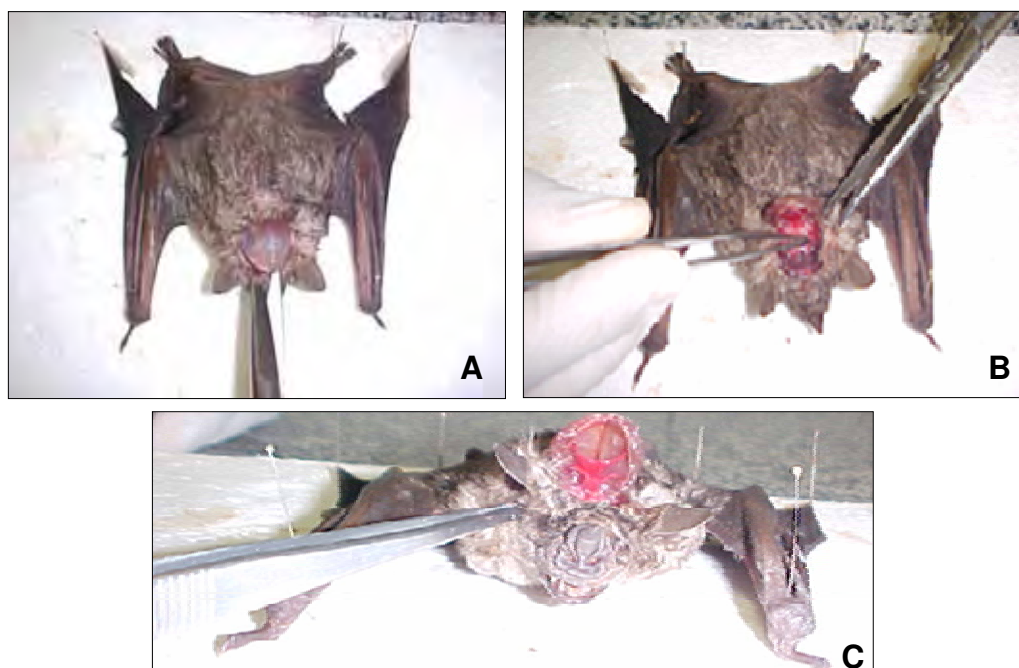


FIGURA 2 - Retirada do encéfalo por meio da abertura do crânio com o uso de tesoura. Araçatuba, 2008.

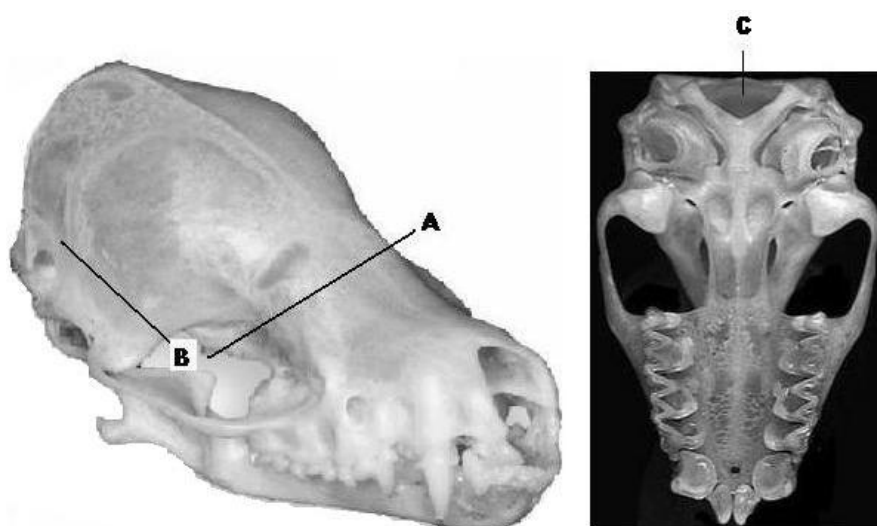


FIGURA 3 - Localização das regiões craniais usadas nos métodos de abertura de crânio (AB) e de sucção com pipeta plástica (C) para a retirada de encéfalo de morcegos. Araçatuba, 2008.

3.4.2 Sucção com pipeta plástica

No método de sucção com pipeta plástica (tipo Pasteur), a retirada foi feita por meio de uma secção na altura da articulação atlanto-occipital do morcego, pelo qual, com auxílio de uma pinça anatômica pequena, foi feita a desobstrução do forame magno (Figura 3-C), retirando-se o osso atlas. Nesse orifício, foi inserida a ponta de uma pipeta plástica de polipropileno, tipo Pasteur, de 170mm e ponta com 3 mm de diâmetro, com capacidade de 3ml. O tecido encefálico foi então aspirado, executando-se, em média quatro sucções até a obtenção de uma aspiração seca (Figura 4 - A e B).

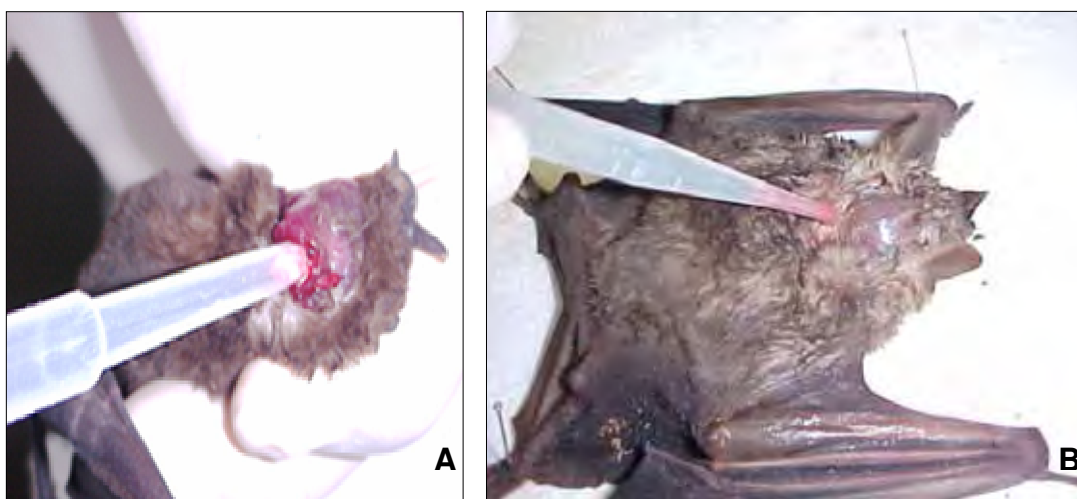


FIGURA 4 - Retirada do encéfalo por meio de aspiração com o uso da pipeta plástica (tipo Pasteur). Araçatuba, 2008.

3.5 Análise estatística

Utilizou-se o teste t para a comparação das médias da PPERPC obtidas pelos dois métodos, adotando-se o nível de significância de 5% (ZAR, 1998). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio de um programa estatístico computadorizado – “Statistical Analysis System (SAS)”.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

A diferença entre os métodos, no que se refere à quantidade de massa encefálica obtida, em todas as espécies, foi estatisticamente significativa ($P < 0,0001$), conforme apresentado na Figura 5.

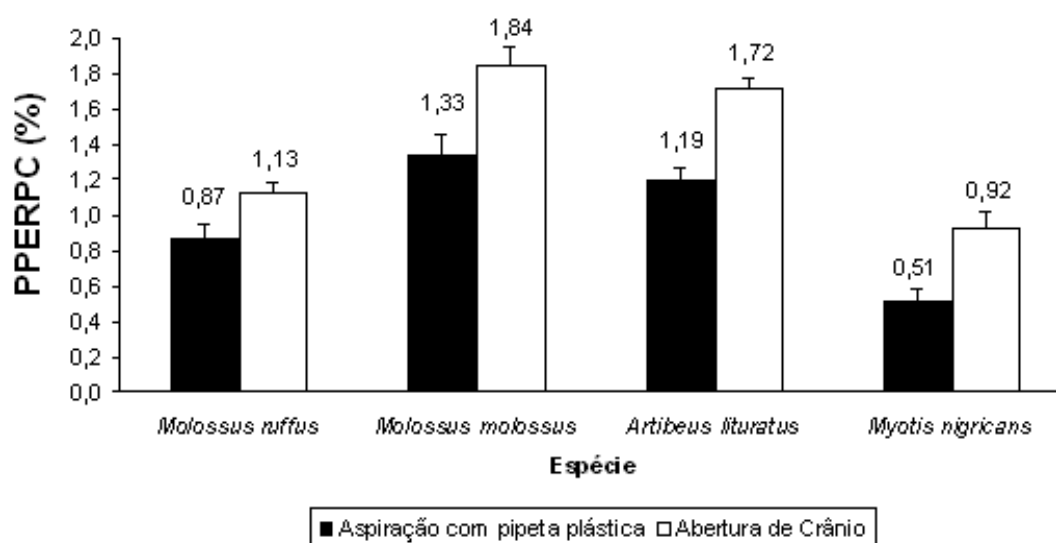


FIGURA 5 - Médias e desvios padrões da proporção do peso encefálico em razão do peso corporal (PPERPC) obtidas por dois métodos de retirada de cérebro de espécies de morcegos, no período de 2005 a 2007. Araçatuba, 2008.

O teste t indicou uma diferença estatística de 0,26 entre a PPERPC no grupo dos *Molossus rufus*; de 0,51 no grupo dos *Molossus molossus*; de 0,53 no grupo dos *Artibeus lituratus* e de 0,41 no grupo dos *Myotis nigricans*. Esses valores foram considerados altamente significativos na comparação das PPERPC's. Contudo, em termos práticos, ambos foram tecnicamente similares, haja vista que em todos os morcegos estudados foi possível a colheita de material cerebral suficiente para todas as análises.

A técnica de abertura de crânio resultou em maior quantidade de massa encefálica, porém danificou o osso, principalmente na espécie *Artibeus lituratus* que apresentou uma maior densidade óssea do crânio em relação às outras três espécies.

Das 200 amostras encefálicas selecionadas para análise e submetidas ao diagnóstico laboratorial da raiva duas foram positivas (1%), sendo uma delas da espécie *Molossus molossus* enviada pelo Centro de Controle de Zoonoses do município de Araçatuba em abril de 2006 e colhida pelo método de sucção com pipeta plástica, e a outra da espécie *Artibeus lituratus*, enviada pela Secretaria de Saúde do município de Ilha Solteira, em agosto do mesmo ano, colhida pelo método de abertura de crânio.

Adotar um procedimento que retire a massa encefálica e preserve o crânio facilita muito o processo de identificação de espécies nas áreas de sistemática filogenética e taxonomia.

O emprego do método de sucção por meio de pipetas plásticas para colheita de encéfalo, já foi descrito, quando não há possibilidade de retirada da cabeça do animal ou do encéfalo inteiro (KING, 1998). Também foram encontrados relatos utilizando canudos plásticos, para colheita de encéfalo de hienas encontradas mortas por atropelamento ou por leões no Serengeti, para pesquisa de vírus rábico.

Iamamoto (2005) utilizou a técnica de sucção por pipeta plástica para colheita de massa encefálica de pequenos roedores, marsupiais e morcegos, para pesquisa do vírus rábico. Estes animais eram provenientes de uma reserva florestal natural do município de Ribeirão Grande, SP e faziam parte de uma pesquisa de impacto ambiental e após serem eutanasiados, deveriam ser identificados com o objetivo de se obter o conhecimento das espécies que ali habitam. Assim, era primordial que se conservasse a estrutura craniana dos animais capturados e a pesquisa do vírus rábico só foi possível com a utilização do método de sucção (IAMAMOTO, 2005).

Este é o primeiro relato de estudo comparando este método alternativo

com o método tradicional de abertura de crânio, para a colheita de encéfalos de pequenos animais, em especial de morcegos, para o exame da raiva.

A metodologia empregada neste estudo é inovadora e facilita a colheita de encéfalo em animais capturados e eutanasiados em pesquisas em áreas de conservação ambiental. Assim, um número maior de amostras poderia ser enviado para a pesquisa do vírus da raiva, sem a necessidade da remessa do animal inteiro ao laboratório. O método de sucção permite ainda a coleta de amostras de encéfalo de animais mortos por atropelamento em estradas, sem a necessidade da coleta integral do encéfalo ou envio do material inteiro, conforme já demonstrado por King (1998).

5 CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados permitem comprovar a hipótese de que o método de sucção com pipeta plástica (tipo Pasteur) é eficaz na obtenção de encéfalo para a realização do diagnóstico comparado com o método tradicional de abertura de crânio, pois, apesar da menor quantidade de massa encefálica obtida, esta foi suficiente para a execução dos métodos diagnósticos e detecção de um caso positivo.

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Rabia. In: _____ **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Whashington: Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud, 2003, p. 351-383.

ALMEIDA, M.F.; AGUIAR, E.,A.C.; MARTORELLI, L.F.A.; SILVA, M.M.S. Diagnóstico laboratorial da raiva em Quirópteros em área metropolitana na região sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 28, n. 5, p. 341-344, 1994.

AMORIN, D.S. **Fundamentos da sistemática filogenética**. Ribeirão Preto: Holos, 2002. p. 11-12.

BERAN, G.W. (Ed.). Rabies and infections by rabies-related viruses. 2 ed. In: _____ **Handbook of zoonoses**. Section B: Viral. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.307-357.

CARTER, D. C ; DOLAN, P. G. Catalogue of type specimens of Neotropical bats in selected European museums. **Special Publications The Museum Texas Tech University**. V.15, p.11-135, 1978.

COSTA, W. A.; ÁVILA, C. A.; VALENTINE, E. J. G.; REICHMANN, M. L. A. B.; CUNHA, R. S.; GUIDOLIN, R.; PANACHÃO, M. R. I.; OMOTO, T. M.; BOLZAN, V. L. **Profilaxia da raiva humana**. 2ª. Ed. São Paulo: Instituto Pasteur, 2000 (Manuais, 4) 33p. il. Disponível em: <http://www.pasteur.saude.sp.gov.br/extras/manual_04.pdf> Acesso em: 15 ago. 2008.

CUNHA, E. M. S.; QUEIROZ DA SILVA, L. H.; LARA, M. C. C. S. H.; NASSAR, A. F. C.; ALBAS, A.; SODRÉ, M. M.; PEDRO, W. A. Raiva em morcegos na região norte-noroeste do Estado de São Paulo, Brasil: 1997-2002. **Revista de Saúde Pública**, v.40, n.6, p.1082-1086, 2006.

DEAN, D. J.; ABELSETH, M. K.; ATANASIU, P. The fluorescent antibody test. In: MESLIN, F. -X ; KAPLAN, M. M.; KOPROWISK, H. (Ed.). **Laboratory techniques in rabies**. 4. ed. Geneva: World Health Organization, 1996. p. 88-95.

DINIZ FILHO, J.A.F. **Métodos filogenéticos comparativos**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.13-21.

DOLAN, P. G. Systematics of Middle American mastiff bats of the genus *Molossus*. **Special Publications The Museum Texas Tech University**. V.39, p. 1-71, 1989.

EAST, M. L.; HOFER, H.; Cox, J.H.; WULLE, U.; WIIK, H.; PITRA, C. Regular exposure to rabies virus and lack of symptomatic disease in Serengeti spotted hyenas. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.98, n.26, p.15026-15031, 2001.

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

GEOFFROY, E. Species *Molossus rufus*. **Ann. du Museum National d'Histoire naturelle Paris**, v. 6, p. 155, 1805.

GREGORIN, R ; TADDEI, V. A. Chave artificial para a identificação de molossídeos brasileiros (Mammalia, Chiroptera). **Mastozoología Neotropical/Journal of Neotropical Mammalogy**, v.9, n.1, p.13-32, 2002.

IAMAMOTO, K. **Pesquisa do vírus rábico em mamíferos silvestres de uma reserva natural particular no município de Ribeirão Grande, São Paulo**. 81f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

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

KING, A. A. Rabies. In: PALMER, S. R.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D. I. H. (Ed.). **Zoonosis**. Oxford: Oxford University Press, 1998. p.437-458.

KOPROWSKI, H. The mouse inoculation test. In: MESLIN, F. –X.; KAPLAN, M. M.; AND KOPROWISK, H. (Ed.). **Laboratory techniques in rabies**. 4. ed. Geneva: World Health Organization, 1996. p. 80-87.

KOTAIT, I.; GONÇALVES, C.A.; PERES, N.F.; SOUZA, M.C.M.; TARGUETA, M.C. **Controle da raiva nos herbívoros**. São Paulo: Instituto Pasteur, 1998 (Manuais, 1) 15p. Disponível em: <http://www.pasteur.saude.sp.gov.br/extras/manual_01.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2008.

MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M. An overview of laboratory techniques in the diagnosis and prevention of rabies and rabies research. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWISK, H. (Ed.). **Laboratory techniques in rabies**. 4. ed. Geneva: World Health Organization, 1996. p. 9-27.

OLFERS, I.V. *Artibeus (Artibeus) lituratus lituratus*, 1818. In: DON E. W.; DEEANN M. R. (ed). **Mammal species of the world. a taxonomic and geographic reference** (3rd ed), Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005.

ORR, R.T. **Biologia dos vertebrados**. 5.ed. São Paulo: Roca, 1999.

PALLAS, P.S. Misc. Zool., p. 49-50, 1766. In: DON E. W.; DEEANN M. R. (ed). **Mammal species of the world. a taxonomic and geographic reference** (3rd ed), Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005.

PASTEUR, L. 1881. De l'attenuation des virus et de leur retour a la virulence. C. R. Acad. Sci. Agric. Bulg. 92:429-435.

PEDRO, W. A. **Diversidade de Morcegos em habitats florestais fragmentados do Brasil (Chiroptera, Mammalia)** 128f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos. 1998.

QUEIROZ DA SILVA, L. H.; PEDRO, W. A.; PILZ, D.; CARVALHO, C.; PINHEIRO, D. M. Rabies infection in bats in Araçatuba region, São Paulo, Brazil. **Vírus Reviews and Research**, v. 6, n. 2, p. 180-181, 2001.

QUEIROZ DA SILVA, L. H.; SEQUENTIN CUNHA, E. M.; PEDRO, W. A.; CARDOSO, T. C.; SOUZA, M. C. C; FERRARI, C. I. L. Isolamento do vírus rábico em *Molossus ater* (Chiroptera: Molossidae) no Estado de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, n. 6, p. 626-628, 1999.

REIS, N. R; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I. P. **Morcegos do Brasil**. 1.ed. Londrina: Nélío R. dos Reis, 2007. p. 17-23.

RUPPRECHT, C. E.; HALON, C. A.; HEMACHUDA, T. Rabies re-examined. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 2, p. 327-343, 2002.

RUPPRECHT, C.E.; STÖHR, K.; MEREDITH, C. Rabies. In: WILLIAMS, E.S.; BARKER, I.K. (Ed.). **Infectious disease of wild mammals**. Iowa: Iowa State University Press, 2001. p. 3-36.

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

SCHEFFER, K. C.; CARRIERI, M. L.; ALBAS, A.; DOS SANTOS, H. C. P.; KOTAIT, I.; ITO, F. H. Vírus da raiva em quirópteros naturalmente infectados no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n.3, p.389-395, 2007.

SCHINZ,. Das Thierreich, v. 1, p. 179, 1821. In: In: DON E. W.; DEEANN M. R. (ed). **Mammal species of the world. a taxonomic and geographic reference** (3rd ed), Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005.

STEBBINS, R. C.; USINGER R. L.; STORER, T. I.; NYBAKKEN, J. W. **Zoologia geral**. 6.ed. São Paulo: Nacional, 1998.

STEELE, J. H.; FERNANDEZ, P. J. History of rabies and global aspects. In: BAER, G.M. (Ed.). **The natural history of rabies**. 2. ed. Florida: CRC Press, 1991. p. 1-24.

VIZOTTO, L.D.; V.A. TADDEI. **Chave para determinação de quirópteros brasileiros**. São José do Rio Preto: 1973. Universidade Estadual Paulista.

VIZOTTO, L.D.; V.A. TADDEI. Notas sobre *Molossops temminckii* e *Molossops planirostris* (Chiroptera, Molossidae) **Naturalia**, v.2, p.47-59, 1976.

ZAR, J. H. **Bioestatistical analysis**. 4.ed. New Jersey: Prentice – Hall, 1998.

ZINKE G. Neue Ansichten der Hundswuth, ihrer Ursachen und Folgen nebst einer sichern Behandlungsart der von tollen Thieren gebissenen Menscher. Gabler Jena Rev 1804; 16: 212.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Tabelas com dados individuais de cada grupo experimental

Tabela 1A - Peso encefálico obtido com dois processos de retirada em *Molossus ruffus* de 2005 a 2007. Araçatuba, 2008

Abertura de Crânio					Aspiração com pipeta plástica				
Registro	PC	PE	PPERPC	Município	Registro	PC	PCE	PPERPC	Município
270/05	38,02	0,42	1,10	Andradina	274/05	34,25	0,32	0,93	Penápolis
271/05	38,00	0,41	1,08	Andradina	276/05	32,80	0,31	0,95	Penápolis
360/05	32,41	0,36	1,11	Araçatuba	277/05	38,60	0,32	0,83	Penápolis
383/05	33,81	0,39	1,15	Andradina	309/05	38,52	0,31	0,80	Sud Menucci
415/05	31,60	0,39	1,23	Birigui	386/05	34,25	0,33	0,96	Penápolis
418/05	31,66	0,35	1,11	Birigui	387/05	32,10	0,28	0,87	Penápolis
420/05	34,80	0,41	1,18	Andradina	470/05	33,37	0,32	0,96	Araçatuba
422/05	31,62	0,38	1,20	Ilha Solteira	47/06	31,59	0,28	0,89	Penápolis
427/05	33,20	0,39	1,17	Guararapes	49/06	35,25	0,28	0,79	Penápolis
459/05	37,95	0,49	1,29	Araçatuba	52/06	33,76	0,31	0,92	Penápolis
460/05	35,37	0,41	1,16	Birigui	59/06	35,25	0,28	0,79	Birigui
464/05	38,04	0,37	0,97	Birigui	65/06	31,59	0,27	0,85	Andradina
467/05	38,59	0,42	1,09	Araçatuba	82/06	37,80	0,29	0,77	Birigui
471/05	37,00	0,39	1,05	Araçatuba	206d/06	32,92	0,31	0,94	Penápolis
473/05	35,35	0,41	1,16	Araçatuba	206e/06	34,72	0,3	0,86	Penápolis
474/05	38,29	0,41	1,07	Araçatuba	206f/06	35,18	0,32	0,91	Penápolis
476/05	38,06	0,48	1,26	Araçatuba	206j/06	34,46	0,29	0,84	Penápolis
206a/06	35,27	0,41	1,16	Penápolis	206k/06	38,61	0,33	0,85	Penápolis
206b/06	35,26	0,39	1,11	Penápolis	206l/06	35,25	0,28	0,79	Penápolis
206c/06	35,11	0,38	1,08	Penápolis	206m/06	34,25	0,31	0,91	Penápolis
206g/06	35,26	0,39	1,11	Penápolis	206p/06	35,17	0,31	0,88	Penápolis
206h/06	35,08	0,39	1,11	Penápolis	212/06	35,25	0,28	0,79	Araçatuba
206i/06	35,15	0,37	1,05	Penápolis	213/06	32,00	0,31	0,97	Birigui
206n/06	32,01	0,38	1,19	Penápolis	233/06	37,85	0,31	0,82	Birigui
206o/06	33,61	0,34	1,01	Penápolis	235/06	32,46	0,27	0,83	Araçatuba
232/06	38,55	0,41	1,06	Birigui	258/06	35,68	0,27	0,76	Valparaíso
353/06	36,27	0,37	1,02	Valparaíso	322/06	35,09	0,31	0,88	Andradina
377/06	31,62	0,29	0,92	Araçatuba	378/06	35,25	0,28	0,79	Araçatuba
385/06	37,24	0,46	1,24	Andradina	338/06	35,55	0,31	0,87	Valparaíso
387/06	32,71	0,38	1,16	Andradina	352/06	35,25	0,31	0,88	Andradina
395/06	33,67	0,36	1,07	Araçatuba	380/06	32,26	0,29	0,90	Penápolis
398/06	34,87	0,37	1,06	Araçatuba	381/06	35,86	0,33	0,92	Penápolis
406/06	31,89	0,44	1,38	Birigui	386/06	32,15	0,28	0,87	Andradina
408/06	38,25	0,41	1,07	Andradina	388/06	35,77	0,33	0,92	Ilha Solteira
403/06	31,84	0,39	1,22	Ilha Solteira	396/06	35,51	0,31	0,87	Araçatuba
295/07	33,67	0,36	1,07	Andradina	402/06	37,97	0,33	0,87	Ilha Solteira
275/07	33,96	0,39	1,15	Penápolis	404/06	36,66	0,33	0,90	Bilac
276/07	31,62	0,36	1,14	Penápolis	283/07	35,22	0,29	0,82	Ilha Solteira
208/07	31,62	0,36	1,14	Araçatuba	211/07	36,39	0,33	0,91	Araçatuba
241A/07	33,17	0,36	1,09	Birigui	241B/07	35,87	0,30	0,84	Birigui

Registro: Numeração recebida pelo animal (contendo o número do exame/ano)

PC: Peso corporal em gramas; PE: Peso encefálico em gramas;

PPERPC: Proporção do peso encefálico em razão do peso corporal (em %)

Tabela 2A - Massa encefálica obtida com dois processos de retirada em *Molossus molossus* de 2005 a 2007. Araçatuba, 2008.

Abertura de Crânio					Aspiração com pipeta plástica				
Registro	PC	PE	PPERPC	Município	Registro	PC	PE	PPERPC	Município
281/05	13,06	0,24	1,84	Andradina	102/06	11,53	0,18	1,56	Birigui
363/05	11,81	0,23	1,95	Araçatuba	103/06	11,49	0,18	1,57	Pereira Barreto
384/05	12,06	0,22	1,82	Birigui	162/06	11,97	0,17	1,42	Araçatuba
466/05	13,25	0,24	1,81	Araçatuba	215/06	12,05	0,18	1,49	Ilha Solteira
468/05	11,93	0,22	1,84	Araçatuba	228/06	13,52	0,17	1,26	Ilha Solteira
61/06	11,43	0,22	1,92	Ilha Solteira	263/06	13,04	0,14	1,07	Guararapes
77/06	13,25	0,23	1,74	Ilha Solteira	276/06	11,89	0,16	1,35	Ilha Solteira
78/06	14,26	0,31	2,17	Ilha Solteira	277/06	14,84	0,18	1,21	Ilha Solteira
78/06	11,93	0,22	1,84	Ilha Solteira	278/06	14,47	0,18	1,24	Penápolis
80/06	11,79	0,21	1,78	Ilha Solteira	389/06	13,04	0,18	1,38	Ilha Solteira
81/06	11,68	0,22	1,88	Ilha Solteira	393/06	12,87	0,18	1,40	Guararapes
90/06	11,28	0,19	1,68	Penápolis	397/06	13,66	0,18	1,32	Araçatuba
95/06	11,82	0,21	1,78	Ilha Solteira	400/06	13,47	0,18	1,34	Araçatuba
96/06	11,55	0,21	1,82	Ilha Solteira	401/06	13,34	0,17	1,27	Ilha Solteira
97/06	11,64	0,19	1,63	Ilha Solteira	405/06	14,54	0,17	1,17	Birigui
98/06	11,13	0,22	1,98	Ilha Solteira	282/06	11,69	0,17	1,45	Birigui
100/06	13,25	0,23	1,74	Agudos	97A/07	12,09	0,16	1,32	Valparaíso
207/06	14,46	0,29	2,01	Ilha Solteira	97B/07	13,42	0,17	1,27	Valparaíso
208/06	11,38	0,19	1,67	Ilha Solteira	97C/07	14,41	0,18	1,25	Valparaíso
214/06	14,63	0,26	1,78	Ilha Solteira	97D/07	14,99	0,19	1,27	Valparaíso
230/06	15,00	0,25	1,67	Ilha Solteira	97E/07	13,51	0,17	1,26	Valparaíso
234/06	14,17	0,26	1,83	Araçatuba	97F/07	12,08	0,18	1,49	Valparaíso
269/06	12,16	0,22	1,81	Ilha Solteira	97G/07	14,37	0,18	1,25	Valparaíso
293/07	11,08	0,22	1,99	Araçatuba	97H/07	13,22	0,17	1,29	Valparaíso
294/07	11,27	0,19	1,69	Ilha Solteira	97I/07	14,33	0,18	1,26	Valparaíso
337/07	11,81	0,21	1,78	Araçatuba	97J/07	13,42	0,17	1,27	Valparaíso
336A/07	12,27	0,24	1,96	Penápolis	336B/07	11,16	0,16	1,43	Penápolis
367/07	14,87	0,29	1,95	Ilha Solteira	277/07	11,42	0,16	1,40	Penápolis
368/07	14,89	0,28	1,88	Ilha Solteira	284/07	12,79	0,17	1,33	Ilha Solteira
369/07	14,76	0,29	1,96	Ilha Solteira	209/07	13,22	0,19	1,44	Araçatuba

Registro: Numeração recebida pelo animal (contendo o número do exame/ano)

PC: Peso corporal em gramas; PE: Peso encefálico em gramas;

PPERPC: Proporção do peso encefálico em razão do peso corporal (em %)

Tabela 3A - Massa encefálica obtida com dois processos de retirada em *Artibeus lituratus* de 2005 a 2007. Araçatuba, 2008.

Abertura de Crânio					Aspiração com pipeta plástica				
Registro	PC	PE	PPERPC	Município	Registro	PC	PE	PPERPC	Município
229/06	65,58	1,02	1,56	Ilha Solteira	236/06	59,78	0,69	1,15	Araçatuba
309/06	66,04	1,12	1,70	Ilha Solteira	265/06	62,59	0,71	1,13	Castilho
323/06	59,43	1,01	1,70	Andradina	350/06	62,07	0,72	1,16	Andradina
365/06	71,92	1,26	1,75	Araçatuba	309/06	59,41	0,69	1,16	Ilha Solteira
106/07	71,65	1,19	1,66	Araçatuba	136/07	70,02	0,87	1,24	Araçatuba
231/07	71,88	1,18	1,64	Araçatuba	240/07	72,03	0,89	1,24	Birigui
246/07	60,43	1,13	1,87	Andradina	264/07	59,44	0,68	1,14	Guararapes
334A/07	62,54	1,09	1,74	Valparaíso	366_31/07	66,09	0,81	1,23	Valparaíso
366_35/07	66,78	1,14	1,71	Valparaíso	366_29/07	63,18	0,77	1,22	Valparaíso
366_38/07	65,89	1,17	1,78	Valparaíso	366_8/07	65,88	0,76	1,15	Valparaíso
366_23/07	66,07	1,11	1,68	Valparaíso	366_6/07	59,48	0,69	1,16	Valparaíso
366_11/07	59,52	1,06	1,78	Valparaíso	366_16/07	59,46	0,71	1,19	Valparaíso
366_14/07	59,48	0,99	1,66	Valparaíso	366_5/07	59,89	0,74	1,24	Valparaíso
I	71,98	1,18	1,64	Valparaíso	VIII	70,92	0,88	1,24	Valparaíso
II	62,49	1,13	1,81	Valparaíso	IX	69,65	0,79	1,13	Valparaíso
III	63,54	1,09	1,72	Valparaíso	X	72,08	0,91	1,26	Valparaíso
IV	65,78	1,14	1,73	Valparaíso	XI	60,43	0,76	1,26	Valparaíso
V	65,89	1,17	1,78	Valparaíso	XII	62,34	0,78	1,25	Valparaíso
VI	66,22	1,11	1,68	Valparaíso	XIII	66,78	0,79	1,18	Valparaíso
VII	59,52	1,06	1,78	Valparaíso	XIV	65,39	0,72	1,10	Valparaíso

Registro: Numeração recebida pelo animal (contendo o número do exame/ano)

PC: Peso corporal em gramas; PCE: Peso cerebral em gramas

PPERPC: Proporção do peso cerebral em razão do peso corporal (em %)

Tabela 4A - Massa encefálica obtida com dois processos de retirada em *Myotis nigricans* de 2005 a 2007, UNESP, Araçatuba, SP.

Abertura de Crânio					Aspiração com pipeta plástica				
Registro	PC	PE	PPERPC	Município	Registro	PC	PE	PPERPC	Município
96/07a	4,63	0,04	0,86	Valparaíso	96/07d	5,34	0,03	0,56	Valparaíso
96/07b	5,03	0,05	0,99	Valparaíso	96/07f	5,41	0,03	0,55	Valparaíso
96/07c	5,11	0,05	0,98	Valparaíso	96/07g	5,49	0,03	0,55	Valparaíso
96/07e	4,77	0,04	0,84	Valparaíso	96/07h	4,92	0,02	0,41	Valparaíso
96/07j	4,84	0,04	0,83	Valparaíso	96/07i	4,97	0,02	0,40	Valparaíso
96/07l	4,92	0,05	1,02	Valparaíso	96/07k	5,12	0,02	0,39	Valparaíso
96/07n	4,91	0,05	1,02	Valparaíso	96/07m	4,77	0,02	0,42	Valparaíso
96/07r	5,04	0,04	0,79	Valparaíso	96/07o	4,98	0,03	0,60	Valparaíso
96/07s	5,28	0,05	0,95	Valparaíso	96/07p	5,09	0,03	0,59	Valparaíso
96/07t	5,22	0,05	0,96	Valparaíso	96/07q	5,07	0,03	0,59	Valparaíso

Registro: Numeração recebida pelo animal (contendo o número do exame/ano)

PC: Peso corporal em gramas; PE: Peso encefálico em gramas;

PPERPC: Proporção do peso encefálico em razão do peso corporal (em %)